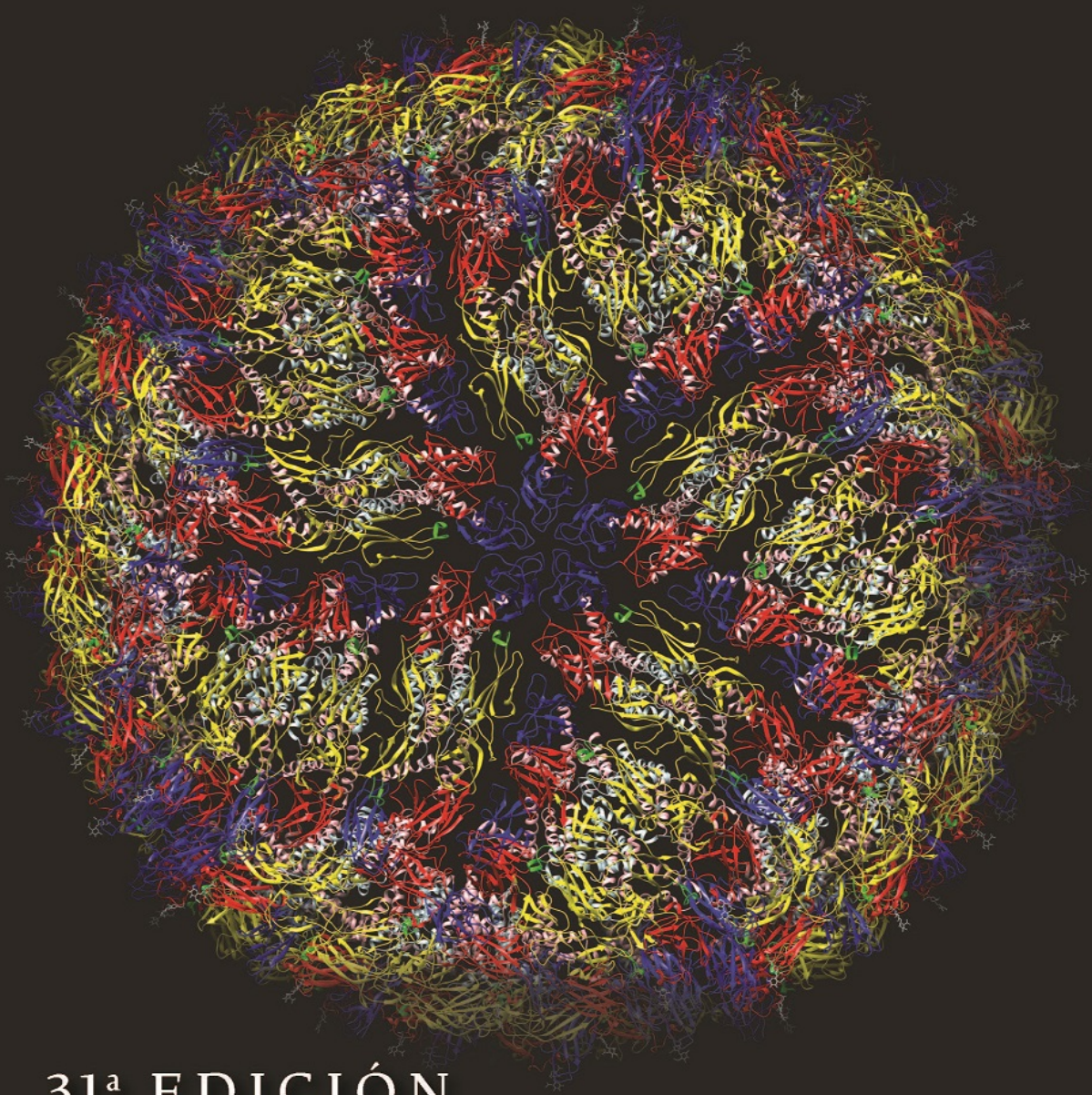


Victor W.
RODWELL

David A.
BENDER

Kathleen M.
BOTHAM

Peter J.
KENNELLY

P. Anthony
WEIL

31ª EDICIÓN

HARPER BIOQUÍMICA ILUSTRADA

LANGE®

Mc Graw Hill Education

a LANGE medical book

Harper Bioquímica ilustrada

TRIGÉSIMA PRIMERA EDICIÓN

Victor W. Rodwell, PhD
Professor (Emeritus) of Biochemistry
Purdue University
West Lafayette, Indiana

David A. Bender, PhD
Professor (Emeritus) of Nutritional Biochemistry
University College London
London, United Kingdom

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
Professor (Emeritus) of Biochemistry
Department of Comparative Biomedical Sciences
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Peter J. Kennelly, PhD
Professor
Department of Biochemistry
Virginia Tech
Blacksburg, Virginia

P. Anthony Weil, PhD
Professor
Department of Molecular Physiology & Biophysics
Vanderbilt University
Nashville, Tennessee

Mc Graw Hill Education

MÉXICO • AUCKLAND • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • GUATEMALA • LONDRES
MADRID • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI • NUEVA YORK • SAN FRANCISCO
SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO • SIDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TORONTO

Publisher, Medical Content, MHE International and Professional: James Shanahan
Director General de Latinoamérica: Martín Chueco
Director Editorial: Hans Serrano
Gerente de Portafolio de Salud: Víctor López Suero
Editora de Desarrollo: Jahel Merediz
Gerente de Preprensa: José Palacios
Supervisión de Producción: Zeferino García García
Servicios Editoriales: Miramar Outsourcing

NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El(los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

Harper Bioquímica ilustrada

TRIGÉSIMA PRIMERA EDICIÓN

Todos los derechos reservados. Esta publicación no puede ser reproducida, ni parcial, ni totalmente, ni registrada en/o transmitida por, un sistema de recuperación de información, en ninguna forma ni formato, por ningún medio, sea mecánico, fotocopiado, electrónico, magnético, electroóptico, o cualquier otro, sin el permiso previo y por escrito de la editorial.

DERECHOS RESERVADOS © 2018, 2016, 2013, 2010, respecto a la tercera edición en español por, McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.
Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A,
Piso 16, Col. Desarrollo Santa Fe,
Alcaldía Álvaro Obregón
C.P. 01376, Ciudad de México
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN: 978-145-62-6738-4
ISBN: 978-607-15-1368-7 (edición anterior)

Traducción: Miramar Outsourcing

Traslated from the thirty first English edition of: *Harper's Illustrated Biochemistry.*
Copyright © 2018 by McGraw-Hill Global Education Holdings, LLC. All Rights Reserved
ISBN: 978-1-259-83793-7

1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 INF 24 23 22 21 20 19

Impreso en México *Printed in Mexico*

Coautores

Peter L. Gross, MD, MSc, FRCP(C)
Associate Professor
Department of Medicine
McMaster University
Hamilton, Ontario, Canada

Molly Jacob MD, PhD
Professor and Head
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Bagayam, Vellore, Tamil Nadu, India

Peter A. Mayes, PhD, DSc
Professor (Emeritus) of Veterinary Biochemistry
Royal Veterinary College
University of London
London, United Kingdom

Robert K. Murray, MD, PhD
Professor (Emeritus) of Biochemistry
University of Toronto
Toronto, Ontario, Canada

Margaret L. Rand, PhD
Senior Associate Scientist
Division of Haematology/Oncology
Hospital for Sick Children, Toronto, and Professor
Department of Biochemistry
University of Toronto, Toronto, Canada

Joe Varghese, MBBS, MD
Professor
Department of Biochemistry
Christian Medical College
Bagayam, Vellore, Tamil Nadu, India

Comité asesor para la revisión científica de la edición en español

Dr. Gerardo Hernández Puga
Profesor de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de México (UNAM)

Dra. María Isabel Gertrudis de León Rojas
Catedrática titular del curso de Bioquímica
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Mesoamericana, Guatemala

Dr. Gustavo Liy Salmerón
Coordinador Académico Ciclos Básicos
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Anáhuac, México

Contenido

Prefacio ix

SECCIÓN I **Estructuras y funciones de las proteínas y las enzimas 1**

1 Bioquímica y medicina 1
Victor W. Rodwell, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

2 Agua y pH 6
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

3 Aminoácidos y péptidos 14
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

4 Proteínas: determinación de la estructura primaria 23
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

5 Proteínas: estructuras de categoría superior 33
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

SECCIÓN II **Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y función de los metales de transición 47**

6 Proteínas: mioglobina y hemoglobina 47
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

7 Enzimas: mecanismo de acción 56
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

8 Enzimas: cinética 68
Victor W. Rodwell, PhD

9 Regulación de las actividades enzimáticas 82
Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

10 Los roles bioquímicos de los metales de transición 92
Peter J. Kennelly, PhD

SECCIÓN III **Bioenergética 105**

11 Bioenergética: la función del ATP 105
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

12 Oxidación biológica 111
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

13 La cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa 117
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN IV **Metabolismo de los carbohidratos 129**

14 Visión general del metabolismo y la disposición de los combustibles metabólicos 129
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

15 Carbohidratos de importancia fisiológica 141
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

16 El ciclo del ácido cítrico: la ruta central del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos 150
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

17 Glucólisis y oxidación del piruvato 157
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

18 Metabolismo de glucógeno 164
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

19 Gluconeogénesis y el control de la glucosa en sangre 172
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

20 La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de las hexosas 182
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN V
Metabolismo de los lípidos 195

21 Lípidos de importancia fisiológica 195
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

22 Oxidación de ácidos grasos: la cetogénesis 207
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

23 Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides 216
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

24 El metabolismo de los acilgliceroles y los esfingolípidos 229
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

25 Transporte y almacenamiento de lípidos 236
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

26 Síntesis, transporte y excreción del colesterol 249
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

SECCIÓN VI
Metabolismo de proteínas y aminoácidos 263

27 Biosíntesis de los aminoácidos nutricionalmente no esenciales 263
Victor W. Rodwell, PhD

28 Catabolismo de proteínas y del nitrógeno de los aminoácidos 269
Victor W. Rodwell, PhD

29 Catabolismo de los esqueletos de carbono de los aminoácidos 280
Victor W. Rodwell, PhD

30 Conversión de aminoácidos en productos especializados 296
Victor W. Rodwell, PhD

31 Porfirinas y pigmentos biliares 305
Victor W. Rodwell, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN VII
Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales 319

32 Nucleótidos 319
Victor W. Rodwell, PhD

33 Metabolismo de los nucleótidos de purina y pirimidina 327
Victor W. Rodwell, PhD

34 Estructura y función del ácido nucleico 338
P. Anthony Weil, PhD

35 Organización, replicación y reparación del DNA 350
P. Anthony Weil, PhD

36 Síntesis, procesamiento y modificación del RNA 374
P. Anthony Weil, PhD

37 La síntesis de proteínas y el código genético 393
P. Anthony Weil, PhD

38 Regulación de la expresión génica 409
P. Anthony Weil, PhD

39 Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica 432
P. Anthony Weil, PhD

SECCIÓN VIII **Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular 459**

40 Membranas: estructura y función 459
P. Anthony Weil, PhD

41 La diversidad del sistema endocrino 480
P. Anthony Weil, PhD

42 Transducción de señal y acción hormonal 500
P. Anthony Weil, PhD

SECCIÓN IX **Temas especiales (A) 519**

43 Nutrición, digestión y absorción 519
David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

44 Micronutrientes: vitaminas y minerales 527
David A. Bender, PhD

45 Radicales libres y nutrientes antioxidantes 541
David A. Bender, PhD

46 Glucoproteínas 546
David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

47 Metabolismo de los xenobióticos 556
David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

48 Bioquímica clínica 560
David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN X **Temas especiales (B) 573**

49 Tráfico intracelular y clasificación de las proteínas 573
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Robert K. Murray, MD, PhD

50 La matriz extracelular 592
Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Robert K. Murray, MD, PhD

51 Músculo y citoesqueleto 611
Peter J. Kennelly, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

52 Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas 627
Peter J. Kennelly, PhD, Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD y Joe Varghese, MBBS, MD

53 Glóbulos rojos 646
Peter J. Kennelly, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

54 Glóbulos blancos 656
Peter J. Kennelly, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

SECCIÓN XI **Temas especiales (C) 669**

55 Hemostasia y trombosis 669
Peter L Gross, MD, MSc, FRCP (C), P Anthony Weil, PhD y Margaret L Rand, PhD

56 Cáncer: una visión general 681
Molly Jacob, MD, PhD, Joe Varghese, PhD y P Anthony Weil, PhD

57 La bioquímica del envejecimiento 707
Peter J. Kennelly, PhD

58 Historias de casos bioquímicos 719
David A. Bender, PhD

El banco de respuestas 731

Índice 735

Prefacio

Los autores y editores se complacen en presentar la trigésima primera edición de *Bioquímica Ilustrada de Harper*. La primera edición, titulada Bioquímica de Harper, se publicó en 1939, bajo la única autoría del Dr. Harold Harper, en la Facultad de Medicina de la Universidad de California, San Francisco, California. Titulado en la actualidad *Bioquímica Ilustrada de Harper*, el libro continúa, como al principio se propuso, proporcionando una revisión concisa de los aspectos más relevantes de la bioquímica para el estudio de la medicina. Varios autores han contribuido a ediciones subsecuentes de este texto sobre bioquímica medicamente orientado, que ahora está cumpliendo sus notables 79 años.

Ilustración de la cubierta para la trigésima primera edición

La ilustración de la cubierta de la trigésima primera edición, la estructura de la proteína del virus del Zika determinada en resolución 3.8 Å, fue generosamente preparada y proporcionada por Lei Sun. Los datos de apoyo aparecieron en Sirohi D, Chen Z, Sun L, Klose T, Pierson TC, Rossmann MG, Kuhn RJ: "La estructura crio-EM de resolución 3.8 Å de la proteína del virus del Zika", *Science* 2016;352:497-470. Junto con el virus del Zika, que se recuperó por primera vez en el valle de Zika de Uganda, los virus responsables de la fiebre amarilla, fiebre del Oeste del Nilo y fiebre del dengue son miembros de la familia de virus DNA de hebra positiva *Flavivridae*. En la ilustración de la cubierta se indica el poder de resolución de la microscopía crioelectrónica (crio-EM, *cryo-electron microscopy*). Más transcendental aún, se reconoce la importancia médica de la infección por el virus del Zika, que en mujeres embarazadas puede causar un riesgo significativo de microcefalia congénita y deterioro mental severo asociado. Si bien el virus del Zika se transmite normalmente por la picadura de un mosquito infectado, pruebas emergentes sugieren que, bajo ciertas condiciones, también puede ser transmitido entre seres humanos.

Cambios en la trigésima primera edición

Como siempre, la *Bioquímica Ilustrada de Harper* continúa enfatizando la estrecha relación de la bioquímica con la comprensión de las enfermedades, sus patologías y la práctica de la medicina. Los contenidos de la mayoría de los capítulos han sido actualizados y proporcionan al lector una información pertinente y más actual. Con este fin, hemos sustituido el capítulo 10 "Bioinformática y biología computacional", la mayor parte de cuyo programa y temas (p. ej., comparaciones de secuencias de proteínas y nucleótidos y acercamiento al diseño de medicamentos *in silico*) está disponible en línea o es del conocimiento común. Su reemplazo, el nuevo capítulo 10 "Bioquímica de los metales de transición", incorpora material de varios capítulos, en particular de aquellos sobre las células sanguíneas y el plasma, que incluían un extenso contenido acerca de adsorción y transporte de iones metálicos, especialmente de hierro y cobre. Debido a que alrededor de un tercio de todas las proteínas son metaloproteínas, el nuevo capítulo 10 aborda de manera explícita la importancia y, sobre todo, la omnipresencia de los metales de transición. Dada la superposición con otros temas de la estructura de la proteína y de los mecanismos de reacción de la enzima, al nuevo capítulo 10 le siguen ahora tres partes sobre las enzimas, como el capítulo final de la sección II, que ahora se denomina "Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y función de los metales de transición".

Organización del libro

Los 58 capítulos de la trigésima primera edición hacen mayor énfasis en la importancia médica de la bioquímica. Los temas están organizados bajo once títulos principales. Tanto para ayudar al estudio, como para facilitar la retención de la información contenida, las preguntas siguen cada sección. Un banco de respuestas sigue al Apéndice.

En la **sección I** se incluye una breve historia de la bioquímica y se subrayan las interrelaciones entre la bioquímica y la medicina. Se analiza el agua, la importancia de la homeostasis del pH intracelular, y se tratan varios órdenes de la estructura de la proteína.

La **sección II** comienza con un capítulo sobre la hemoglobina. Después cuatro capítulos tratan la cinética, el mecanismo de acción y la regulación metabólica de las enzimas, así como la función de los iones metálicos en aspectos múltiples del metabolismo intermediario.

La **sección III** se dirige a la bioenergética y la función de los fosfatos de alta energía en la captura y transferencia de energía, las reacciones de oxidación-reducción implicadas en la oxidación biológica y los detalles metabólicos de la ganancia de energía a través de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.

En la **sección IV** se aborda el metabolismo de los hidratos de carbono a través de la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, la vía de la pentosa fosfato, el metabolismo del glucógeno, la gluconeogénesis y el control de la glucosa en la sangre.

En la **sección V** se perfila la naturaleza de los lípidos simples y complejos, el transporte y almacenamiento de los lípidos, la biosíntesis y la degradación de los ácidos grasos y los lípidos más complejos, y las reacciones y regulación metabólica de la biosíntesis y el transporte del colesterol en los seres humanos.

En la **sección VI** se discute sobre el catabolismo de las proteínas, la biosíntesis de la urea y el catabolismo de los aminoácidos, y se destacan los trastornos metabólicos, significativos desde el punto de vista médico, asociados con su catabolismo incompleto. En el último capítulo se reflexiona sobre la bioquímica de las porfirinas y los pigmentos biliares.

En la **sección VII** primero se perfila la estructura y la función de los nucleótidos y los ácidos nucleicos, luego los detalles de la réplica y reparación del DNA, la síntesis y la modificación del RNA, la síntesis de proteínas, los principios de la tecnología del DNA recombinante y la regulación de la expresión génica.

En la **sección VIII** se refieren aspectos de la comunicación extracelular e intracelular. Los temas específicos incluyen estructura y función de la membrana, las bases moleculares de las acciones de las hormonas y la transducción de señales.

En las **secciones IX, X y XI** se abordan catorce temas de importancia médica significativa.

En la **sección IX** se discute sobre nutrición, digestión y absorción de los micronutrientes, incluidos los radicales libres de vitaminas y antioxidantes, las glucoproteínas, el metabolismo de los xenobióticos y la bioquímica clínica.

En la **sección X** se hace alusión al transporte intracelular y la clasificación de las proteínas, la matriz extracelular, el músculo y el citoesqueleto, las proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas y la bioquímica de los glóbulos rojos y los glóbulos blancos.

En la **sección XI** se incluye la hemostasis y la trombosis, una revisión del cáncer, la bioquímica del envejecimiento y una selección de historias de casos.

Reconocimientos

Los autores agradecen a Michael Weitz, por su función en la planificación de esta edición, y a Peter Boyle, por supervisar la preparación para la publicación. También agradecemos a Surbhi Mittal y Jyoti Shaw, de Cenveo Publisher Services, por sus esfuerzos en la conducción de la edición, composición e ilustraciones. Agradecemos las numerosas sugerencias y correcciones recibidas de estudiantes y colegas de todo el mundo, especialmente las del Dr. Karthikeyan Pethusamy, del Instituto All India de Ciencias Médicas, Nueva Delhi, India.

Victor W. Rodwell
David A. Bender
Kathleen M. Botham
Peter J. Kennelly
P. Anthony Weil

SECCIÓN I

Estructuras y funciones de las proteínas y las enzimas

CAPÍTULO 1

Bioquímica y medicina

Victor W. Rodwell, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Entender la importancia de la capacidad de los extractos de levadura libres de células para fermentar los azúcares, una observación que permitió el descubrimiento de los metabolitos intermediarios de la fermentación, la glucólisis y otras vías metabólicas.
- Apreciar el alcance de la bioquímica y su función central en las ciencias de la vida, y que la bioquímica y la medicina son disciplinas íntimamente relacionadas.
- Apreciar que la bioquímica integra el conocimiento de los procesos químicos en las células vivas con estrategias para mantener la salud, entender la enfermedad, identificar las terapias potenciales y mejorar nuestro entendimiento de los orígenes de la vida en la Tierra.
- Describir cómo los enfoques genéticos han sido críticos para dilucidar muchas áreas de la bioquímica y cómo el Proyecto del Genoma Humano ha promovido avances en numerosos aspectos de la biología y la medicina.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioquímica y la medicina disfrutan de una relación mutuamente cooperativa. Los estudios bioquímicos han iluminado muchos aspectos de la salud y la enfermedad, y el estudio de dichos aspectos ha abierto nuevas áreas de la bioquímica. En este libro se enfatiza en la importancia médica de la bioquímica tanto en situaciones normales como anormales. La bioquímica efectúa contribuciones significativas al campo de la biología celular, la fisiología, la inmunología, la microbiología, la farmacología, la toxicología y la epidemiología, así como al campo de la inflamación, el daño celular y el cáncer. Estas estrechas relaciones subrayan que la vida, como sabemos, depende de las reacciones y procesos bioquímicos.

DESCUBRIMIENTO DE QUE UN EXTRACTO DE LEVADURA LIBRE DE CÉLULAS PUEDE FERMENTAR EL AZÚCAR

Aunque la capacidad de la levadura de "fermentar" varios azúcares hasta conseguir alcohol etílico se ha conocido durante milenios, de manera comparativa, sólo recientemente este proceso inició la ciencia de la bioquímica. El gran microbiólogo francés Louis Pasteur sustentó que la fermentación sólo podría ocurrir en las células intactas. Sin embargo, en 1899, los hermanos Büchner descubrieron que la fermentación podría ocurrir en *ausencia* de células intactas, cuando almacenaron un extracto de la levadura en un cántaro

con una solución de azúcar concentrada, agregada como preservante. Durante la noche, el contenido fermentado del cántaro se derramó por toda la mesa del laboratorio y el suelo, lo cual fue demostración fehaciente de que la fermentación puede seguir en ausencia de una célula intacta. Este descubrimiento desencadenó un torrente de investigaciones que inició la ciencia de la bioquímica. Las investigaciones revelaron las funciones vitales del fosfato inorgánico, ADP, ATP y NAD(H), y por último identificaron los azúcares fosforilados y las reacciones químicas y enzimas que convierten la glucosa a piruvato (glucólisis) o a etanol y CO_2 (fermentación). El comienzo de la investigación en los años 1930 identificó los metabolitos intermediarios del ciclo del ácido cítrico y de la biosíntesis de la urea, y reveló las funciones esenciales de ciertos cofactores derivados de las vitaminas o las "coenzimas" como el pirofosfato de tiamina, la riboflavina, y por último la coenzima A, la coenzima Q y la coenzima cobamida. En los años 1950 se conoció cómo los hidratos de carbono complejos son sintetizados y fragmentados hasta azúcares simples y las vías para la biosíntesis de las pentosas y el catabolismo de los aminoácidos y los ácidos grasos.

Los investigadores emplearon modelos animales, órganos intactos perfundidos, partes de tejidos, células homogéneas y sus subfracciones, y posteriormente enzimas purificadas. Los avances fueron mejorados por el desarrollo de la ultracentrifugación analítica, la cromatografía en papel y otras formas de cromatografía y la disponibilidad de radioisótopos después de la Segunda Guerra Mundial, principalmente ^{14}C, ^{3}H y ^{32}P, como "marcadores" para identificar los metabolitos intermediarios en las vías complejas como la biosíntesis del colesterol. La cristalografía de rayos X era usada entonces para solucionar las estructuras tridimensionales de numerosas proteínas, polinucleótidos, enzimas y virus. Los avances genéticos que siguieron a la comprensión de que el DNA era una doble hélice incluyen la reacción en cadena de la polimerasa, y los animales transgénicos o aquellos con bloqueo de genes. Los métodos empleados para preparar, analizar, purificar e identificar los metabolitos y las actividades de las enzimas naturales y recombinantes, y sus estructuras tridimensionales se discuten en los capítulos siguientes.

LA BIOQUÍMICA Y LA MEDICINA HAN PROPORCIONADO AVANCES MUTUOS

Las dos preocupaciones principales de los trabajadores de las ciencias de la salud —y en particular los médicos— son el entendimiento y mantenimiento de la salud y el tratamiento eficaz de la enfermedad. La bioquímica afecta a ambas preocupaciones fundamentales, y la interrelación de la bioquímica y la medicina es una calle amplia, de doble sentido. Los estudios bioquímicos han iluminado muchos aspectos de la salud y la enfermedad, y a la inversa, el estudio de varios aspectos de salud y enfermedad ha abierto nuevas áreas de la bioquímica (véase **figura 1-1**). Un ejemplo temprano acerca de la investigación de la estructura y función de la proteína reveló la diferencia única en la secuencia de aminoácidos entre la hemoglobina normal y la hemoglobina de células falciformes. El análisis subsecuente de numerosas variantes de células falciformes y otras hemoglobinas ha contribuido considerablemente a nuestro entendimiento de la estructura y función tanto de la hemoglobina como de otras proteínas. Durante principios de los años 1900 el médico inglés Archibald Garrod estudió a pacientes con trastornos relativamente raros de alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria, y estableció que estas condiciones fueron genéticamente determinadas. Garrod designó estas condiciones como **errores innatos del metabolismo**. Su percepción estableció una base para el desarrollo del campo de la genética bioquímica humana. Un ejemplo más reciente fue la investigación de la base genética y molecular de la hipercolesterolemia familiar, una enfermedad que causa el inicio temprano de la aterosclerosis. Además, el esclarecimiento de las diferentes mutaciones genéticas responsables de esta enfermedad proporcionó un entendimiento más profundo de los receptores de la célula y mecanismos de la captación, no sólo del colesterol, sino también de la manera en que otras moléculas cruzan las membranas de las células. Los estudios de los **oncogenes** y los **genes supresores tumorales** en las células cancerosas han dirigido la atención a los mecanismos moleculares implicados en el control del crecimiento celular normal. Estos ejemplos ilustran cómo el estudio de la enfermedad puede abrir áreas de la investigación bioquímica básica. La ciencia provee a los médicos y otros profesionales en asistencia médica y biológica con un fundamento que impacta la práctica, estimula la curiosidad y promueve la adopción de enfoques científicos para el aprendizaje continuo.

LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS SON LA BASE DE LA SALUD HUMANA

La investigación bioquímica repercute en la nutrición y la medicina preventiva

La Organización Mundial de la Salud (WHO, *World Health Organization*) define la salud como un estado "de bienestar físico, mental, y social completo y no simplemente la ausencia de enfermedad y debilidad". Desde el punto de vista de la bioquímica, la salud se pue-

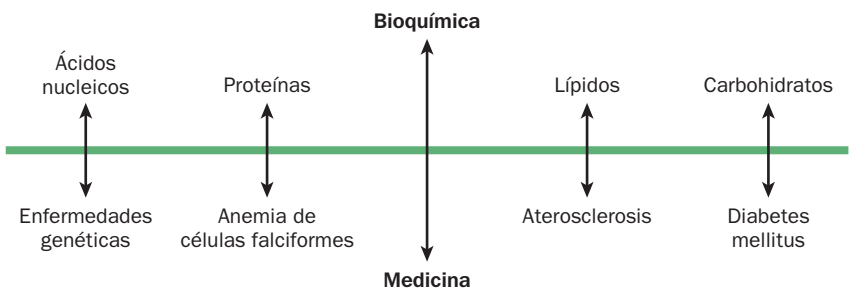


FIGURA 1-1 Una calle de doble sentido conecta la bioquímica y la medicina. El conocimiento de los temas bioquímicos dispuestos encima de la línea verde del diagrama ha aclarado nuestro entendimiento de las enfermedades que aparecen debajo de dicha línea. A la inversa, el estudio de las enfermedades ha arrojado luz sobre muchas áreas de la bioquímica. Nótese que la anemia de células falciformes es una enfermedad genética, y que tanto la aterosclerosis como la diabetes mellitus tienen componentes genéticos.

de considerar como esa situación en la cual las miles de reacciones intra y extracelulares que ocurren en el cuerpo, siguen un ritmo proporcionado con la supervivencia del organismo bajo la presión tanto de los desafíos internos como de los externos. El mantenimiento de la salud requiere de un consumo dietético óptimo de **vitaminas**, ciertos **aminoácidos** y **ácidos grasos**, varios **minerales** y **agua**. Comprender la nutrición depende en alto grado del conocimiento de la bioquímica; las ciencias de la bioquímica y la nutrición comparten el interés sobre estos elementos. El progresivo énfasis reciente sobre el intento sistemático de asegurar la salud y prevenir la enfermedad, o **medicina preventiva**, incluye enfoques alimenticios para la prevención de enfermedades como la aterosclerosis y el cáncer.

La mayoría de las enfermedades tiene una base bioquímica

Aparte de los organismos infecciosos y contaminadores ambientales, muchas enfermedades son manifestaciones de anomalías en los genes, las proteínas, las reacciones químicas o los procesos bioquímicos, cada uno de los cuales puede afectar adversamente una o varias funciones bioquímicas importantes. Los ejemplos de las alteraciones en la bioquímica humana responsables de enfermedades u otras condiciones debilitantes incluyen el desequilibrio de electrólitos, los defectos en la ingestión o absorción de nutrientes, los desequilibrios hormonales, los agentes tóxicos químicos o biológicos y los trastornos genéticos basados en el DNA. Para dirigir estos desafíos, la investigación bioquímica sigue estando entrelazada con estudios en disciplinas como la genética, la biología celular, la inmunología, la nutrición, la patología y la farmacología. Además, muchos bioquímicos están sumamente interesados en la contribución a soluciones de cuestiones clave como la supervivencia fundamental de la humanidad y la educación del público para apoyar el uso del método científico en la solución de los principales problemas ambientales y otros que confronta nuestra civilización.

Impacto del Proyecto del Genoma Humano en la bioquímica, la biología y la medicina

El rápido e inesperado progreso en la secuenciación del genoma humano a finales de la década de 1990 condujo, a mediados de los años 2000, al anuncio de que más de 90% del genoma había sido secuenciado. Este esfuerzo fue encabezado por el Consorcio Internacional para la Secuencia del Genoma Humano y por Celera Genomics. Con excepción de algunos intervalos, la secuencia del genoma humano completo se consiguió en 2003, sólo 50 años después de la descripción de la naturaleza doble helicoidal del DNA por Watson y Crick. Las implicaciones para la bioquímica, la medicina, y de hecho, para toda la biología, son virtualmente ilimitadas. Por ejemplo, la capacidad de aislar y secuenciar un gen e investigar su estructura y función por secuencia y experimentos de "bloqueo génico" ha revelado previamente genes desconocidos y sus productos, y se han ganado nuevos conocimientos con respecto a la evolución humana y los procedimientos para identificar genes relacionados con las enfermedades.

Los principales avances en la bioquímica y el entendimiento de la salud humana y la enfermedad continúan siendo hechos por la mutación de los genomas de organismos de modelos como la levadura, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, el nemátodo *Caenorhabditis elegans* y el pez cebra, todos los organismos que pueden ser genéticamente manipulados para proporcionar una percepción de las funciones de los genes individuales. Estos adelantos tienen el potencial de brindar pistas en la curación de trastornos humanos como la enfermedad de Alzheimer y el cáncer. En la **figura 1-2** se destacan las áreas que se han desarrollado o se han acelerado como resultado directo del progreso hecho en el Proyecto del Genoma Humano (HGP, *Human Genome Project*). Las nuevas áreas **"ómicas"** se concentran en el estudio completo de las estructuras y las funciones de las moléculas por las cuales cada uno se interesa. Los productos de genes (moléculas de RNA y proteínas) están siendo estudiados con el uso de las técnicas **transcriptómicas** y **proteómicas**. Un ejemplo espectacular de la velocidad del progreso en la transcriptómica es la explosión de conocimiento sobre pequeñas moléculas del RNA como reguladoras de la actividad de los genes. Otros campos ómicos incluyen, la **glicómica**, la **lipidómica**, la **metabolómica**, la **nutrigenómica** y la **farmacogenómica**. Para seguir el ritmo de la información generada, la **bioinformática** ha recibido mucha atención. Otros campos relacionados a los cuales se ha transmitido el ímpetu del HGP son la **biotecnología**, la **bioingeniería**, la **biofísica** y la **bioética**. Las definiciones de estas áreas ómicas y otros términos aparecen en el "Glosario" de este capítulo. La **na-**

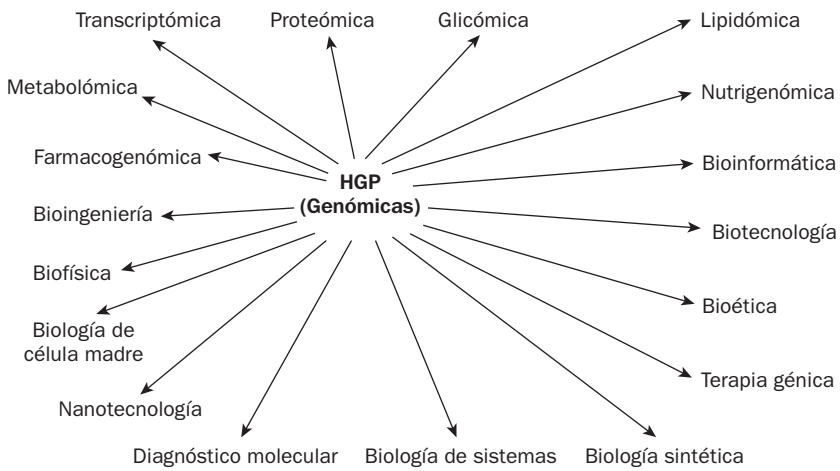


FIGURA 1-2 El Proyecto del Genoma Humano (HGP) ha influido en muchas disciplinas y áreas de la investigación. La bioquímica no está en la lista ya que precede al inicio del HGP, pero disciplinas como la bioinformática, la genómica, la glicómica, la lipidómica, la metabolómica, los diagnósticos moleculares, la proteómica y la transcriptómica son, no obstante, áreas activas de la investigación bioquímica.

notecnología es un área activa, que puede proporcionar, por ejemplo, métodos nuevos de diagnóstico y tratamiento para el cáncer y otros trastornos. La **biología de la célula madre** está en el centro de numerosas investigaciones en curso. La **terapia génica** aún tiene que lograr la promesa que parece ofrecer, pero todo indica que finalmente ocurrirá. Se han desarrollado muchas nuevas **pruebas diagnósticas moleculares** en áreas tales como la genética, la microbiología, y las pruebas inmunológicas y diagnóstico. También florece la **biología de sistemas**. Los resultados de la investigación en varias áreas mencionadas con anterioridad impactarán extraordinariamente el futuro de la biología, la medicina y las ciencias de la salud. La **biología sintética** ofrece el potencial para crear organismos vivos, al principio pequeñas bacterias, del material genético *in vitro,* que podrían realizar tareas específicas como limpiadoras de los vertimientos de petróleo. Todo lo anterior hace del siglo XXI un tiempo estimulante para involucrarse directamente en la biología y la medicina.

RESUMEN

- La bioquímica es la ciencia relacionada con las moléculas presentes en los organismos vivos, las reacciones químicas individuales y sus enzimas catalíticas, y la expresión y regulación de cada proceso metabólico. La bioquímica se ha convertido en el lenguaje básico de todas las ciencias biológicas.
- A pesar del enfoque sobre la bioquímica humana en este texto, la bioquímica concierne a todo el espectro de formas de vida, desde los virus, bacterias y plantas hasta el complejo eucariota como los seres humanos.
- La bioquímica, la medicina y otras disciplinas de la asistencia médica están íntimamente relacionadas. La salud en todas las especies depende del equilibrio armonioso de las reacciones bioquímicas que ocurren en el cuerpo, mientras que la enfermedad refleja las anormalidades en las biomoléculas, las reacciones bioquímicas o los procesos bioquímicos.
- Los avances en el conocimiento bioquímico han iluminado muchas áreas de la medicina, y el estudio de enfermedades a menudo ha revelado aspectos previamente insospechados de la bioquímica.
- Los enfoques bioquímicos a menudo son fundamentales para elucidar las causas de enfermedades y en el diseño de la terapia apropiada. Las pruebas de laboratorio bioquímicas también representan un componente integral del diagnóstico y la monitorización del tratamiento.
- El conocimiento sólido de la bioquímica y de otras disciplinas básicas relacionadas, es esencial para la práctica racional de la medicina y las ciencias de la salud.
- Los resultados del HGP y de la investigación en áreas relacionadas tendrán una influencia profunda en el futuro de la biología, la medicina y otras ciencias de la salud.
- La investigación de la genómica en organismos modelos como la levadura, la mosca de la fruta *D. melanogaster*, el nemátodo *C. elegans*, y el pez cebra proporciona la percepción del entendimiento de las enfermedades humanas.

GLOSARIO

Bioética: Área de la ética que está relacionada con la aplicación de principios morales y éticos a la biología y la medicina.

Biofísica: Aplicación de la física y sus técnicas a la biología y la medicina.

Bioinformática: Disciplina interesada por la colección, almacenamiento y análisis de los datos biológicos, por ejemplo, el DNA, el RNA y las secuencias de proteínas.

Bioingeniería: Aplicación de la ingeniería en la biología y la medicina.

Biología de la célula madre: Las células madre son células no diferenciadas que tienen el potencial para autorregenerarse y diferenciarse en cualquiera de las células adultas de un organismo. Este concepto concierne a la biología de las células madre propiamente dichas y a su potencial para tratar varias enfermedades.

Biología de sistemas: Campo interesado en los sistemas biológicos complejos estudiados como entidades integradas.

Biología sintética: Campo que combina técnicas biomoleculares con enfoques de ingeniería para construir nuevas funciones biológicas y sistemas.

Biotecnología: Campo en el cual se combinan la bioquímica, la ingeniería, y otros enfoques para desarrollar productos biológicos de uso en la medicina y la industria.

Diagnóstico molecular: Se refiere al uso de enfoques moleculares como sondas del DNA para asistir en el diagnóstico de varias enfermedades bioquímicas, genéticas, inmunológicas, microbiológicas y otras.

Farmacogenómica: Uso de información genómica y tecnologías para optimizar el descubrimiento y el desarrollo de nuevos fármacos y objetivos farmacológicos.

Genómica: El genoma es el grupo completo de genes de un organismo, y la genómica es el estudio a profundidad de las estructuras y las funciones de los genomas.

Glicómica: El glicoma es el complemento total de los hidratos de carbono simples y complejos en un organismo. La glicómica es el estudio sistemático de las estructuras y las funciones de los glicomas, como el glicoma humano.

Lipidómica: El lipidoma es el complemento completo de lípidos encontrados en un organismo. La lipidómica es el estudio profundo de las estructuras y las funciones de todos los miembros del lipidoma y de sus interacciones, tanto en la salud como en la enfermedad.

Metabolómica: El metaboloma es el complemento completo de los metabolitos (pequeñas moléculas implicadas en el metabolismo) presente en un organismo. La metabolómica es el estudio a profundidad de las estructuras, funciones y cambios de varios estados metabólicos.

Nanotecnología: Desarrollo y aplicación a la medicina y otras áreas de dispositivos como las nanocápsulas, que tienen el tamaño de sólo unos nanómetros (10^{-9} m = 1 nm).

Nutrigenómica: Estudio sistemático de los efectos de los nutrientes en la expresión genética y de los efectos de variaciones genéticas en el metabolismo de los nutrientes.

Proteómica: El proteoma es el complemento completo de proteínas de un organismo. La proteómica es el estudio sistemático de las estructuras y las funciones de los proteomas y sus variaciones en la salud y la enfermedad.

Terapia génica: Se aplica al uso de genes genéticamente diseñados para tratar varias enfermedades.

Transcriptómica: Estudio completo del transcriptoma, el grupo completo de transcripciones del RNA producido por el genoma durante un periodo fijo.

APÉNDICE

Se muestran ejemplos seleccionados de bases de datos que reúnen, anotan y analizan información de importancia biomédica.

ENCODE (*ENCyclopedia Of DNA Elements*): Enciclopedia de elementos del DNA. Una colaboración de esfuerzos que combina enfoques de laboratorio y computacionales para identificar cada elemento funcional en el genoma humano.

GenBank: La base de datos de la secuencia de proteína de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH, *National Institutes of Health*) almacena todas las secuencias de nucleótidos biológicos conocidas y sus traducciones en una forma investigable.

HapMap (*Hap*lotype *Map*): Mapa de haplotipo, un esfuerzo internacional para identificar los polimorfismos de nucleótidos simples (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) asociados con enfermedades humanas comunes y respuestas diferentes a los productos farmacéuticos.

ISDB (*I*nternational *S*equence *D*ata*B*ase): Base de Datos de Secuencia Internacional, que incorpora bases de datos del DNA de Japón y del Laboratorio de Biología Molecular Europeo (EMBL, *European Molecular Biology Laboratory*).

PDB (*P*rotein *D*ata*B*ase): Base de Datos de la Proteína. Estructuras tridimensionales de las proteínas, los polinucleótidos y otras macromoléculas, incluyendo las proteínas ligadas a los sustratos, los inhibidores u otras proteínas.

CAPÍTULO 2

Agua y pH

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las propiedades del agua que explican su tensión superficial, viscosidad, estado líquido a la temperatura ambiental y poder disolvente.
- Usar fórmulas estructurales para representar varios compuestos orgánicos que pueden servir como donantes o aceptores de enlaces de hidrógeno.
- Explicar el papel de la entropía en la orientación de las regiones polares y no polares de las macromoléculas en un medio acuoso.
- Indicar las contribuciones cuantitativas de los puentes salinos, de las interacciones hidrófobas, y de las fuerzas de van der Waals en la estabilidad de las macromoléculas.
- Explicar la relación de pH a acidez, alcalinidad, y los determinantes cuantitativos que caracterizan los ácidos fuertes y débiles.
- Calcular el cambio en el pH que acompaña a la adición de una cantidad dada de ácido o base al pH de una solución tamponada.
- Describir qué hacen los tampones, cómo lo hacen, y las condiciones fisiológicas, u otras, en las cuales un tampón es más efectivo en otras condiciones.
- Ilustrar la forma de usar la ecuación de Henderson-Hasselbalch para calcular la carga neta de un polielectrolito a un pH dado.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El agua es el componente químico predominante de los organismos vivos. Sus propiedades físicas únicas, que incluyen la capacidad de solvatar una amplia gama de moléculas orgánicas e inorgánicas, se derivan de su estructura dipolar y su facultad excepcional para formar enlaces de hidrógeno. La manera en que el agua interactúa con una biomolécula solvatada influye en la estructura, tanto de la biomolécula como del agua misma. Al ser un excelente nucleófilo, el agua es un reaccionante, o producto, en muchas reacciones metabólicas. La regulación del balance hídrico depende de los mecanismos hipotalámicos que controlan la sed, de la hormona antidiurética (ADH, *antidiuretic hormone*), de la retención o excreción de agua por los riñones y de la pérdida por evaporación. La diabetes insípida nefrogénica, que implica la incapacidad para concentrar la orina o adaptarse a los cambios sutiles en la osmolaridad del líquido extracelular, es el resultado de la falta de respuesta de los osmorreceptores tubulares renales a la ADH.

El agua tiene una ligera propensión a disociarse en iones hidroxilo y protones. La concentración de protones, o **acidez**, de las soluciones acuosas se informa por lo general utilizando la escala logarítmica de pH. El bicarbonato y otros tampones normalmente mantienen el pH del fluido extracelular entre 7.35 y 7.45. Las supuestas alteraciones del equilibrio ácido-base se verifican midiendo el pH de la sangre arterial y el contenido de CO_2 de la sangre venosa. Las causas de acidosis (pH sanguíneo < 7.35) incluyen cetosis diabética y acidosis láctica. La alcalosis (pH > 7.45) puede seguir al vómito del contenido gástrico ácido.

EL AGUA ES UN SOLVENTE BIOLÓGICO IDEAL

Las moléculas de agua forman dipolos

Una molécula de agua es un tetraedro irregular ligeramente torcido con un oxígeno en el centro (véase **figura 2-1**). Los dos hidrógenos y los electrones no compartidos de los dos orbitales *hibridizados* sp^3 restantes ocupan las esquinas del tetraedro. El ángulo de 105° entre los dos átomos de hidrógeno difiere ligeramente del ángulo tetraédrico ideal, 109.5°. El amoniaco también es tetraédrico, con un ángulo de 107° entre sus tres hidrógenos. El átomo de oxígeno fuertemente electronegativo en una molécula de agua atrae los electrones de los núcleos de hidrógeno, dejándolos con carga parcial positiva, mientras que sus dos pares de electrones no compartidos constituyen una región local de carga negativa.

Una molécula con carga eléctrica distribuida de forma asimétrica sobre su estructura se denomina **dipolo**. El fuerte dipolo del

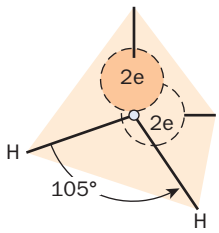


FIGURA 2-1 **La molécula de agua tiene geometría tetraédrica.**

agua es responsable de su alta **constante dieléctrica**. Como se describe cuantitativamente por la ley de Coulomb, la fuerza de la interacción F entre las partículas con carga opuesta es inversamente proporcional a la constante dieléctrica ε del medio circundante. La constante dieléctrica para el vacío es esencialmente la unidad; para el hexano es 1.9; para el etanol 24.3, y para el agua a 25 °C, 78.5. Por tanto, el agua disminuye en gran medida la fuerza de atracción entre especies polares cargadas en relación con ambientes libres de agua, que poseen constantes dieléctricas más bajas. Su fuerte dipolo y su alta constante dieléctrica hacen posible que el agua disuelva grandes cantidades de compuestos cargados tales como las sales.

Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno

Un núcleo de hidrógeno parcialmente no apantallado, unido en forma covalente a un átomo de oxígeno o nitrógeno aceptor de electrones, puede interactuar con un par de electrones no compartidos en otro átomo de oxígeno o nitrógeno para formar un **enlace de hidrógeno**. Dado que las moléculas de agua contienen ambas características, los enlaces de hidrógeno favorecen la autoasociación de las moléculas de agua en arreglos ordenados (véase **figura 2-2**).

La unión del hidrógeno influye de forma notable en las propiedades físicas del agua y explica su viscosidad, tensión superficial y punto de ebullición relativamente altos. En promedio, cada molécula en el agua líquida se asocia a través de enlaces de hidrógeno con otras 3.5 moléculas. Estos enlaces son relativamente débiles y transitorios, con una semivida de unos pocos picosegundos. La ruptura de un enlace de hidrógeno en agua líquida requiere sólo alrededor de 4.5 kcal/mol, menos de 5% de la energía necesaria para romper un enlace covalente O—H.

El enlace de hidrógeno permite que el agua disuelva muchas biomoléculas orgánicas que contienen grupos funcionales que

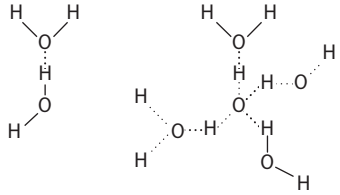


FIGURA 2-2 **Las moléculas de agua se autoasocian mediante enlaces de hidrógeno.** Se muestra la asociación de dos moléculas de agua (**izquierda**) y un grupo de cuatro moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno (**derecha**). Tenga en cuenta que el agua puede servir simultáneamente como donante de hidrógeno y como receptor de hidrógeno.

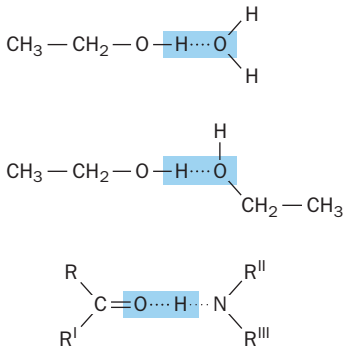


FIGURA 2-3 **Otros grupos polares participan en los enlaces de hidrógeno.** Se muestran enlaces de hidrógeno formados entre el alcohol y el agua, entre dos moléculas de etanol, y entre el péptido carbonil oxígeno y el péptido nitrógeno hidrógeno de un aminoácido adyacente.

pueden participar en el enlace de hidrógeno. Los átomos de oxígeno de los aldehídos, cetonas y amidas, por ejemplo, proporcionan pares solitarios de electrones que pueden servir como aceptores de hidrógeno. Los alcoholes, ácidos carboxílicos y aminas pueden servir como aceptores de hidrógeno y como donantes de átomos de hidrógeno no apantallados para formar enlaces de hidrógeno (véase **figura 2-3**).

LA INTERACCIÓN CON EL AGUA INFLUYE EN LA ESTRUCTURA DE LAS BIOMOLÉCULAS

Los enlaces covalentes y no covalentes estabilizan las moléculas biológicas

El enlace covalente es la fuerza más poderosa que mantiene unidas las moléculas (véase **cuadro 2-1**). Las fuerzas no covalentes, aunque de menor magnitud, contribuyen significativamente a la estructura, estabilidad y competencia funcional de las macromoléculas en las células vivas. Estas fuerzas, que pueden ser atractivas o repulsivas, implican interacciones dentro de las biomoléculas, y entre ellas y el agua que forma el componente principal del entorno circundante.

CUADRO 2-1 **Energías de enlace para átomos de importancia biológica**

Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)	Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)
O—O	34	O=O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C=S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C=C	147
C—O	84	C=N	147
N—H	94	C=O	164

Las biomoléculas se pliegan para posicionar grupos polares y cargados en sus superficies

La mayoría de las biomoléculas son **anfipáticas**; es decir, poseen regiones ricas en grupos funcionales cargados, o polares, así como regiones con carácter hidrófobo. Las proteínas tienden a acoplarse a los grupos R de aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas en el interior. Los aminoácidos con cadenas laterales de aminoácidos cargados, o polares (p. ej., arginina, glutamato, serina, consúltese cuadro 3-1), por lo general están presentes en la superficie en contacto con el agua. Un patrón similar prevalece en una bicapa de fosfolípidos donde los "grupos principales" cargados de fosfatidilserina o fosfatidiletanolamina entran en contacto con el agua, mientras que sus cadenas laterales de acilo graso hidrófobas se aglomeran juntas, excluyendo el agua (véase figura 40-5). Este patrón maximiza las oportunidades para la formación de interacciones energéticamente favorables de carga-dipolo, dipolo-dipolo, y enlaces de hidrógeno, entre los grupos polares de la biomolécula y el agua. También minimiza los contactos energéticamente desfavorables entre el agua y los grupos hidrófobos.

Interacciones hidrófobas

La interacción hidrófoba se refiere a la tendencia de los compuestos no polares a autoasociarse en un entorno acuoso. Esta autoasociación no está impulsada por la atracción mutua, ni por lo que a veces se denomina incorrectamente como "enlaces hidrófobos". La autoasociación minimiza la perturbación de las interacciones energéticamente favorables entre las moléculas de agua circundantes.

Aunque los hidrógenos de grupos no polares como los grupos metileno de hidrocarburos no forman enlaces de hidrógeno, sí afectan la estructura del agua que los rodea. Las moléculas de agua adyacentes a un grupo hidrófobo están restringidas en el número de orientaciones (grados de libertad) que les permiten participar en el máximo número de enlaces de hidrógeno energéticamente favorables. La máxima formación de múltiples enlaces de hidrógeno, que maximiza la entalpía, sólo se puede mantener aumentando el orden de las moléculas de agua adyacentes, con la consiguiente disminución de la entropía.

De la segunda ley de la termodinámica se deduce que la energía libre óptima de una mezcla de hidrocarburos y agua es una función de la entalpía máxima (del enlace de hidrógeno) y de la entropía máxima (grados de libertad máximos). Por tanto, las moléculas no polares tienden a formar gotas que minimizan el área superficial expuesta y reducen el número de moléculas de agua, cuya libertad de movimiento se vuelve restringida. De forma similar, en el entorno acuoso de la célula viva, las porciones hidrófobas de los biopolímeros tienden a estar enterradas dentro de la estructura de la molécula, o dentro de una bicapa lipídica, minimizando el contacto con el agua.

Interacciones electrostáticas

Las interacciones entre grupos cargados ayudan a dar forma a la estructura biomolecular. Las interacciones electrostáticas entre grupos con carga opuesta, dentro o entre biomoléculas, se denominan **puentes salinos**. Los puentes salinos son comparables en fuerza a los enlaces de hidrógeno, pero actúan a mayores distancias. Por tanto, a menudo facilitan la unión de moléculas y iones cargados a proteínas y ácidos nucleicos.

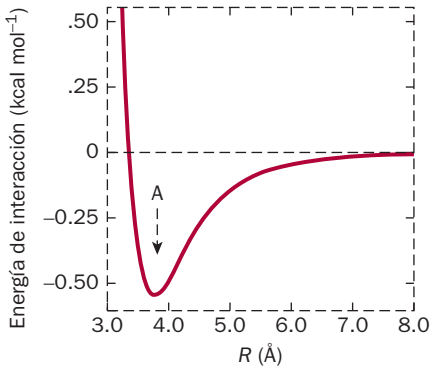


FIGURA 2-4 La fuerza de las interacciones de Van der Waals varía con la distancia, *R*, entre especies que interactúan. La fuerza de interacción entre especies que interactúan aumenta con la distancia decreciente entre ellas hasta que están separadas por la distancia de contacto de Van der Waals (véase flecha marcada con A). La repulsión debida a la interacción entre las nubes de electrones de cada átomo o molécula sobreviene más adelante. Si bien las interacciones individuales de van der Waals son extremadamente débiles, su efecto acumulativo es, no obstante, sustancial para macromoléculas como el DNA y las proteínas que tienen muchos átomos en contacto cercano.

Fuerzas de Van der Waals

Las fuerzas de Van der Waals surgen de las atracciones entre los dipolos transitorios generados por el movimiento rápido de los electrones de todos los átomos neutros. Más débiles que los enlaces de hidrógeno de forma significativa, pero potencialmente muy numerosas, las fuerzas de Van der Waals disminuyen a la sexta potencia de la distancia que separa los átomos (consúltese **figura 2-4**). Así, actúan en distancias muy cortas, por lo general de 2 a 4 Å.

Las fuerzas múltiples estabilizan las biomoléculas

La doble hélice del DNA ilustra la contribución de múltiples fuerzas a la estructura de las biomoléculas. Mientras que cada cadena de DNA individual se mantiene unida mediante enlaces covalentes, las dos cadenas de la hélice se mantienen juntas exclusivamente mediante interacciones no covalentes, como enlaces de hidrógeno entre bases de nucleótidos (emparejamiento de bases Watson-Crick), e interacciones de Van der Waals entre las bases apiladas de purina y pirimidina. La doble hélice presenta los grupos fosfato cargados y los grupos polares hidroxilo, desde los azúcares de ribosa de la cadena principal del DNA hasta el agua, a la vez que entierra las bases de nucleótidos relativamente hidrófobas en su interior. La columna vertebral extendida maximiza la distancia entre los fosfatos cargados negativamente, lo cual minimiza las interacciones electrostáticas desfavorables (véase figura 34-2).

EL AGUA ES UN NUCLEÓFILO EXCELENTE

Las reacciones metabólicas a menudo implican el ataque de pares solitarios de electrones que residen en moléculas ricas en electrones, denominadas **nucleófilos** hacia átomos pobres en electrones, llamados **electrófilos**. Los nucleófilos y electrófilos no necesariamente

poseen una carga formal negativa o positiva. El agua, cuyos dos pares solitarios de electrones sp^3 tienen una carga parcial negativa (consúltese figura 2-1), es un excelente nucleófilo. Otros nucleófilos de importancia biológica incluyen los átomos de oxígeno de fosfatos, alcoholes y ácidos carboxílicos; el azufre de los tioles, y el átomo de nitrógeno de aminas y del anillo de imidazol de la histidina. Los electrófilos comunes incluyen los carbonos de carbonilo en amidas, ésteres, aldehídos y cetonas, y los átomos de fósforo de los fosfoésteres.

El ataque nucleofílico por el agua normalmente da como resultado la escisión de los enlaces amida, glucósido o éster, que mantienen unidos los biopolímeros. Este proceso se denomina **hidrólisis**. A la inversa, cuando las unidades monoméricas se unen entre sí para formar biopolímeros tales como proteínas o glucógeno, el agua es un producto; por ejemplo, durante la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos.

Aunque la hidrólisis es una reacción favorecida termodinámicamente, los enlaces amida y fosfoéster de los polipéptidos y oligonucleótidos son estables en el entorno acuoso de la célula. Esta conducta aparentemente paradójica refleja el hecho de que la termodinámica que gobierna el punto de equilibrio de una reacción no determina la *velocidad* a la que avanzará hacia su punto de equilibrio. En la célula, los catalizadores de proteínas llamados **enzimas** aceleran la velocidad de las reacciones hidrolíticas cuando es necesario. Las **proteasas** catalizan la hidrólisis de las proteínas en sus aminoácidos componentes, mientras que las **nucleasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en el DNA y el RNA. Se requiere un control cuidadoso de las actividades de estas enzimas para garantizar que actúen sólo en los momentos apropiados.

Muchas reacciones metabólicas implican transferencia de grupo

Muchas de las reacciones enzimáticas responsables de la síntesis y ruptura de biomoléculas implican la transferencia de un grupo químico G de un donador D a un aceptor A para formar un complejo de grupo aceptor, A—G:

$$\text{D—G} + \text{A} \rightleftarrows \text{A—G} + \text{D}$$

La hidrólisis y la fosforólisis del glucógeno, por ejemplo, implican la transferencia de grupos glucosilo al agua o al ortofosfato. La constante de equilibrio para la hidrólisis de enlaces covalentes favorece en gran medida la formación de productos divididos. Por el contrario, muchas reacciones de transferencia de grupo responsables de la biosíntesis de macromoléculas implican la formación termodinámicamente desfavorable de enlaces covalentes. Los catalizadores enzimáticos desempeñan un papel fundamental en la superación de estas barreras, en virtud de su capacidad para vincular directamente dos reacciones normalmente separadas entre sí. Al unir una reacción de transferencia de grupo energéticamente desfavorable con una reacción termodinámicamente favorable, tal como la hidrólisis de ATP, se puede generar una nueva reacción acoplada cuyo *cambio total* neto en energía libre favorece la síntesis del biopolímero.

Dado el carácter nucleofílico del agua y su alta concentración en las células, ¿por qué los biopolímeros como las proteínas y el DNA son relativamente estables? ¿Y cómo puede ocurrir la síntesis de biopolímeros en un ambiente acuoso que favorece la hidrólisis? Lo más importante en ambas preguntas son las propiedades de las enzimas. En ausencia de catálisis enzimática, incluso las reacciones que son muy favorecidas termodinámicamente no necesariamente tienen lugar con rapidez. El control preciso y diferencial de la actividad enzimática, y la captura de enzimas en orgánulos específicos, determinan las circunstancias fisiológicas bajo las cuales un biopolímero dado se sintetizará o degradará. La capacidad de los sitios activos de la enzima para capturar sustratos, en un entorno del que se pueda excluir el agua, facilita la síntesis de los biopolímeros.

Las moléculas de agua muestran una leve pero importante tendencia a disociarse

La capacidad del agua para ionizarse, aunque leve, es de vital importancia para la vida. Como el agua puede actuar como ácido y como base, su ionización se puede representar como una transferencia intermolecular de protones que forma un ion hidronio (H_3O^+) y un ion hidróxido (OH^-):

$$H_2O + H_2O \rightleftarrows H_3O + OH^-$$

El protón transferido está asociado realmente con un grupo de moléculas de agua. Los protones existen en solución no sólo como H_3O^+, sino también como multímeros tales como $H_5O_2^+$ y $H_7O_3^+$. Sin embargo, el protón se representa rutinariamente como H^+, aunque de hecho está muy hidratado.

Como los iones hidronio e hidróxido se recombinan continuamente para formar moléculas de agua, no se puede decir que un hidrógeno u oxígeno *individual* esté presente como un ion o como parte de una molécula de agua. En un momento es un ion, un instante después es parte de una molécula de agua. Por tanto, no se consideran los iones o moléculas individuales. En cambio, nos referimos a la *probabilidad* de que en cualquier instante en el tiempo un hidrógeno dado estará presente como un ion o como parte de una molécula de agua. Dado que 1 g de agua contiene 3.46×10^{22} moléculas, la ionización del agua se puede describir estadísticamente. Afirmar que la probabilidad de que un hidrógeno exista como un ion es 0.01 significa que en un momento dado en el tiempo, un átomo de hidrógeno tiene una oportunidad en 100 de ser un ion y 99 posibilidades de 100 de formar parte de una molécula de agua. La probabilidad real de que un átomo de hidrógeno en agua pura exista como ion hidrógeno es de 1.8×10^{-9} aproximadamente. La probabilidad de que sea parte de una molécula de agua es casi la misma. Dicho de otra manera, por cada ion de hidrógeno o ion de hidróxido en agua pura, hay 0.56 mil millones o 0.56×10^9 moléculas de agua. Sin embargo, los iones de hidrógeno y los iones de hidróxido contribuyen significativamente a las propiedades del agua.

Para la disociación del agua,

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

donde los paréntesis representan las concentraciones molares (estrictamente hablando, actividades molares) y K es la **constante de disociación**. Como 1 mol (mol) de agua pesa 18 g, 1 litro (L) (1 000 g) de agua contiene $1\,000 \div 18 = 55.56$ mol. El agua pura es, por tanto, 55.56 molar. Dado que la probabilidad de que un hidrógeno en agua pura exista como ion de hidrógeno es 1.8×10^{-9}, la concentración molar de iones H^+ (o de iones OH^-) en agua pura es el producto de la probabilidad, 1.8×10^{-9}, multiplicada por la concentración molar de agua, 55.56 mol/L. El resultado es 1.0×10^{-7} mol/L.

Ahora podemos calcular la constante de disociación K para el agua pura:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]}$$
$$= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L}$$

La concentración molar de agua, 55.56 mol/L, es demasiado grande para ser afectada en forma significativa por la disociación. De aquí que se considere esencialmente constante. Así, esta constante puede incorporarse en la constante de disociación K, para proporcionar una nueva constante útil K_w denominada **producto iónico** del agua. La relación entre K_w y K se muestra a continuación:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L}$$
$$K_w = (K)[H_2O] = [H^+][OH^-]$$
$$= (1.8 \times 10^{-16} \text{ mol/L})(55.56 \text{ mol/L})$$
$$= 1.00 \times 10^{-14} (\text{mol/L})^2$$

Téngase en cuenta que las dimensiones de K son moles por litro y las de K_w son moles^2 por litro^2. Como su nombre lo indica, el producto de iones K_w es numéricamente igual al producto de las concentraciones molares de H^+ y OH^-:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

A 25 °C, $K_w = (10^{-7})^2$ o 10^{-14} (mol/L)^2. A temperaturas inferiores a 25 °C, K_w es algo menor que 10^{-14}, y a temperaturas superiores a 25 °C es algo mayor que 10^{-14}. Dentro de las limitaciones de temperatura establecidas, K_w es igual a 10^{-14} (mol/L)^2 para todas las soluciones acuosas, incluso soluciones de ácidos o bases. Usamos K_w para calcular el pH de las soluciones ácidas y básicas.

EL pH ES EL LOGARITMO NEGATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE IONES DE HIDRÓGENO

El término **pH** fue introducido en 1909 por Sörensen, quien lo definió como el registro negativo de la concentración de iones de hidrógeno:

$$pH = -\log[H^+]$$

Esta definición, si bien no es rigurosa, es suficiente para muchos fines bioquímicos. Para calcular el pH de una disolución:

1. Calcule la concentración de iones de hidrógeno $[H^+]$.
2. Calcule el logaritmo de base 10 de $[H^+]$.
3. El pH es el negativo del valor encontrado en el paso 2.

Por ejemplo, para agua pura a 25 °C,

$$pH = -\log[H^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

Este valor también se conoce como la *potencia* (inglés), *puissant* (francés) o *potennz* (alemán) del exponente, de ahí el uso del término "p".

Los valores bajos de pH corresponden a altas concentraciones de H^+, y los valores altos de pH corresponden a bajas concentraciones de H^+.

Los ácidos son **donantes de protones** y las bases son **aceptores de protones**. Los **ácidos fuertes** (p. ej., HCl, H_2SO_4) se disocian completamente en aniones y protones, incluso en soluciones fuertemente ácidas (pH bajo). Los **ácidos débiles** se disocian sólo parcialmente en soluciones ácidas. De forma similar, las **bases fuertes** (p. ej., KOH, NaOH), pero no las **bases débiles** como el $Ca(OH)_2$, están completamente disociadas, incluso a pH alto. Muchos productos bioquímicos son ácidos débiles. Las excepciones incluyen metabolitos intermediarios fosforilados, cuyos grupos fosforilo contienen dos protones disociables, el primero de los cuales es fuertemente ácido.

Los siguientes ejemplos ilustran cómo calcular el pH de las soluciones ácidas y básicas.

Ejemplo 1: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidrógeno es 3.2×10^{-4} mol/L?

$$pH = -\log[H^+]$$
$$= -\log(3.2 \times 10^{-4})$$
$$= -\log(3.2) - \log(10^{-4})$$
$$= -0.5 + 4.0$$
$$= 3.5$$

Ejemplo 2: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de iones hidróxido es 4.0×10^{-4} mol/L? Primero definimos una cantidad **pOH** que es igual a $-\log[OH^-]$ y que se puede deducir de la definición de K_w:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}$$

Por tanto,

$$\log[H^+] + \log[OH^-] = \log 10^{-14}$$

o

$$pH + pOH = 14$$

Para resolver el problema con este enfoque:

$$[OH^-] = 4.0 \times 10^{-4}$$
$$pOH = -\log[OH^-]$$
$$= -\log(4.0 \times 10^{-4})$$
$$= -\log(4.0) - \log(10^{-4})$$
$$= -0.60 + 4.0$$
$$= 3.4$$

Ahora

$$pH = 14 - pOH = 14 - 3.4$$
$$= 10.6$$

Los ejemplos anteriores ilustran cómo la escala de pH logarítmica facilita el registro y la comparación de las concentraciones de iones de hidrógeno, que difieren en órdenes de magnitud uno del otro, 0.00032 M (pH 3.5) y 0.000000000025 M (pH 10.6).

Ejemplo 3: ¿Cuáles son los valores de pH de (a) 2.0×10^{-2} mol/L de KOH y de (b) 2.0×10^{-6} mol/L de KOH? El OH^- surge de dos fuentes, KOH y agua. Como el pH está determinado por el total de $[H^+]$

(y el pOH por el total de [OH^-]), se deben considerar ambas fuentes. En el primer caso (a), la contribución del agua al total [OH^-] es insignificante. No puede decirse lo mismo para el segundo caso (b):

	Concentración (mol/L)	
	(a)	(b)
Molaridad del KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
[OH^-] del KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
[OH^-] del agua	1.0×10^{-7}	1.0×10^{-7}
Total [OH^-]	2.00001×10^{-2}	2.1×10^{-6}

Una vez que se ha llegado a una decisión sobre la importancia de la contribución del agua, el pH se puede calcular como el anterior.

Los ejemplos anteriores suponen que la base fuerte KOH está completamente disociada en solución, y que la concentración de iones OH^- es así igual a la debida al KOH más el presente en el agua al inicio. Esta suposición es válida para soluciones diluidas de bases o ácidos fuertes, pero no para bases o ácidos débiles. Como los electrólitos débiles se disocian sólo ligeramente en la solución, debemos usar la **constante de disociación** para calcular la concentración de [H^+] (u [OH^-]) producida por una molaridad dada de un ácido débil (o base) antes de calcular el [H^+] total (o el [OH^-] total), y posteriormente el pH.

Los grupos funcionales que son ácidos débiles tienen gran importancia fisiológica

Muchos productos bioquímicos poseen grupos funcionales que son ácidos o bases débiles. Los grupos carboxilo, los grupos amino y los ésteres de fosfato, cuya segunda disociación se encuentra dentro del rango fisiológico, están presentes en proteínas y ácidos nucleicos, en la mayoría de las coenzimas y en la mayoría de los metabolitos intermediarios. El conocimiento de la disociación de ácidos y bases débiles es, por tanto, básico para comprender la influencia del pH intracelular sobre la estructura y la actividad biológica. Las separaciones basadas en la carga, como la electroforesis y la cromatografía de intercambio iónico, también se comprenden mejor en términos del comportamiento de disociación de los grupos funcionales.

Llamamos a la especie protonada (HA o R—NH_3^+) al ácido y a la especie no protonada (A^- o R—NH_2) su **base conjugada**. Asimismo, podemos referirnos a una **base** (A^- o R—NH_2) y su **ácido conjugado** (HA o R—NH_3^+).

Expresamos las fortalezas relativas de ácidos y bases débiles en términos de sus constantes de disociación. A continuación se muestran las expresiones de la constante de disociación (K_a) para dos ácidos débiles representativos, R—COOH y R—NH_3^+.

$$\text{R—COOH} \rightleftarrows \text{R—COO}^- + \text{H}^+$$

$$K_a = \frac{[\text{R—COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{R—COOH}]}$$

$$\text{R—NH}_3^+ \rightleftarrows \text{R—NH}_2 + \text{H}^+$$

$$K_a = \frac{[\text{R—NH}_2][\text{H}^+]}{[\text{R—NH}_3^+]}$$

Dado que los valores numéricos de K_a para ácidos débiles son números exponenciales negativos, expresamos K_a como pK_a, donde

$$pK_a = -\log K_a$$

Nótese que pK_a está relacionado con K_a como el pH lo está a [H^+]. Cuanto más fuerte es el ácido, menor es su valor de pK_a.

Los ácidos débiles representativos (izquierda), sus bases conjugadas (centro) y los valores de pK_a (derecha) incluyen:

R—CH_2—COOH	R—CH_2COO^-	$pK_a = 4 - 5$
R—CH_2—NH_3^+	R—CH_2—NH_2	$pK_a = 9 - 10$
H_2CO_3	HCO_3^-	$pK_a = 6.4$
$H_2PO_4^-$	HPO_4^{-2}	$pK_a = 7.2$

pK_a se usa para expresar las resistencias relativas tanto de ácidos como de bases. Para cualquier ácido débil, su conjugado es una base fuerte. Del mismo modo, el conjugado de una base fuerte es un ácido débil. **Las resistencias relativas de las bases se expresan en términos del pK_a de sus ácidos conjugados.** Para los compuestos polipróticos que contienen más de un protón disociable se asigna un subíndice numérico a cada disociación, que se enumera a partir de la unidad en orden decreciente de acidez relativa. Para una disociación del tipo

$$\text{R—NH}_3^+ \rightarrow \text{R—NH}_2 + \text{H}^+$$

El pK_a es el pH en que la concentración del ácido R—NH_3^+ es igual a la de la base R—NH_2.

De las ecuaciones anteriores que relacionan K_a con [H^+] y con las concentraciones de ácido no disociado y su base conjugada, cuando

$$[\text{R—COO}^-] = [\text{R—COOH}]$$

o cuando

$$[\text{R—NH}_2] = [\text{R—NH}_3^+]$$

entonces

$$K_a = [\text{H}^+]$$

Por tanto, cuando las especies asociadas (protonadas) y disociadas (base conjugada) están presentes en concentraciones iguales, la concentración predominante de iones de hidrógeno [H^+] es numéricamente igual a la constante de disociación, K_a. Si se toman los logaritmos de ambos lados de la ecuación anterior y ambos lados se multiplican por –1, las expresiones serían las siguientes:

$$K_a = [\text{H}^+]$$

$$-\log K_a = -\log[\text{H}^+]$$

Dado que $-\log K_a$ se define como pK_a y $-\log[H^+]$ define el pH, la ecuación puede ser reescrita como

$$pK_a = \text{pH}$$

es decir, **el pK_a de un grupo ácido es el pH al que están presentes las especies protonada y no protonada a la misma concentración**. El pK_a de un ácido se puede determinar añadiendo 0.5 equivalentes

de álcali por equivalente de ácido. El pH resultante será igual al pK_a del ácido.

La ecuación de Henderson-Hasselbalch describe el comportamiento de ácidos débiles y tampones

A continuación se deriva la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

Un ácido débil, HA, se ioniza de la siguiente manera:

$$HA \rightleftarrows H^+ + A^-$$

La constante de equilibrio para esta disociación es

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

La multiplicación cruzada proporciona

$$[H^+][A^-] = K_a[HA]$$

Dividiendo ambos lados por $[A^-]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Tomando el logaritmo a ambos lados:

$$\log[H^+] = \log\left(K_a \frac{[HA]}{[A^-]}\right)$$
$$= \log K_a + \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

Multiplicando por –1:

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

Sustituyendo pH y pK_a por $-\log[H^+]$ y $-\log K_a$, respectivamente; entonces

$$pH = pK_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

La inversión del último término elimina el signo menos y proporciona la **ecuación de Henderson-Hasselbalch**

$$\mathbf{pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]}}$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch tiene gran valor predictivo en equilibrios protónicos. Por ejemplo,

1. Cuando un ácido está exactamente medio neutralizado, $[A^-] = [HA]$. Bajo estas condiciones,

$$pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]} = pK_a + \log\left(\frac{1}{1}\right) = pK_a + 0$$

Por tanto, a la mitad de la neutralización, $pH = pK_a$.

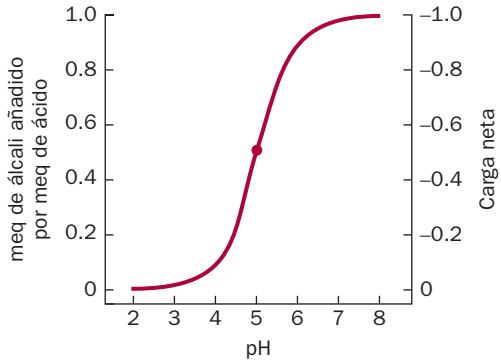


FIGURA 2-5 **Curva de titulación para un ácido del tipo AH.** El punto grueso en el centro de la curva indica el pK_a 5.0.

2. Cuando la relación $[A^-]/[HA] = 100:1$,

$$pH = pK_a + \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$
$$pH = pK_a + \log(100/1) = pK_a + 2$$

3. Cuando la relación $[A^-]/[HA] = 1:10$,

$$pH = pK_a + \log(1/10) = pK_a + (-1)$$

Si la ecuación se evalúa en proporciones de $[A^-]/[HA]$ que van desde 10^3 hasta 10^{-3} y se trazan los valores de pH calculados, el gráfico resultante describe la curva de titulación para un ácido débil (consúltese **figura 2-5**).

Soluciones de ácidos débiles y sus sales. Cambios de pH en el tampón

Las soluciones de ácidos o bases débiles y sus conjugados exhiben **amortiguación**, la capacidad de resistir un cambio en el pH después de la adición de un ácido o una base fuerte. Muchas reacciones metabólicas se acompañan de la liberación o captación de protones. El metabolismo oxidativo produce CO_2, el anhídrido del ácido carbónico, que si no se amortigua produciría acidosis grave. El mantenimiento biológico de un pH constante implica amortiguar con fosfato, bicarbonato y proteínas, que aceptan o liberan protones para resistir un cambio en el pH. En los experimentos de laboratorio que utilizan extractos de tejidos o enzimas, el pH se mantiene constante mediante la adición de tampones tales como MES (ácido [2-*N*-morfolino] etanosulfónico, pK_a 6.1), ortofosfato inorgánico (pK_{a2} 7.2), HEPES (ácido *N*-hidroxietilpiperazina)-*N*′-2-etanosulfónico, pK_a 6.8) o tris (tris[hidroximetil]aminometano, pK_a 8.3). El valor de pK_a con respecto al pH deseado es el principal determinante del tampón a seleccionar.

La amortiguación se puede observar con un pH metro mientras se titula un ácido o base débil (véase figura 2-5). También se puede calcular el desplazamiento de pH que acompaña a la adición de un ácido o una base a una solución tamponada. En el siguiente ejemplo, la solución tamponada (un ácido débil, pK_a = 5.0 y su base conjugada) está inicialmente en uno de cuatro valores de pH. Calcularemos el cambio de pH que resulta cuando se agregan 0.1 meq de KOH a 1 meq de cada solución:

pH inicial	5.00	5.37	5.60	5.86
$[A^-]_{inicial}$	0.50	0.70	0.80	0.88
$[HA]_{inicial}$	0.50	0.30	0.20	0.12
$([A^-]/[HA])_{inicial}$	1.00	2.33	4.00	7.33
Adición de 0.1 meq de KOH produce				
$[A^-]_{final}$	0.60	0.80	0.90	0.98
$[HA]_{final}$	0.40	0.20	0.10	0.02
$([A^-]/[HA])_{final}$	1.50	4.00	9.00	49.0
log $([A^-]/[HA])_{final}$	0.18	0.60	0.95	1.69
pH final	5.18	5.60	5.95	6.69
ΔpH	**0.18**	**0.60**	**0.95**	**1.69**

Obsérvese que la ΔpH, el cambio en el pH por miliequivalente de OH^- agregado, depende del pH inicial. La solución resiste los cambios de pH más eficazmente a valores de pH cercanos al pK_a. **Una solución de un ácido débil y su base conjugada amortigua con mayor eficacia en el intervalo de pH: pK_a ± 1.0 unidades de pH.**

La figura 2-5 también ilustra cómo la carga neta en una molécula del ácido varía con el pH. Una carga fraccionaria de –0.5 no significa que una molécula individual tenga una carga fraccionaria, sino que la *probabilidad* de que una molécula dada tenga una carga negativa unitaria en cualquier momento dado en el tiempo es 0.5. La consideración de la carga neta sobre las macromoléculas en función del pH proporciona la base para las técnicas de separación, como la cromatografía de intercambio iónico y la electroforesis (véase el capítulo 4).

La fortaleza del ácido depende de la estructura molecular

Muchos ácidos de interés biológico poseen más de un grupo disociativo. La presencia de una carga negativa local dificulta la liberación de protones de los grupos ácidos cercanos, lo cual eleva su pK_a. Esto se ilustra mediante los valores de pK_a de los tres grupos disociantes de ácido fosfórico y ácido cítrico (consúltese **cuadro 2-2**). El efecto de la carga adyacente disminuye con la distancia. El segundo pK_a para el ácido succínico, que tiene dos grupos metileno entre sus grupos carboxilo, es 5.6, mientras que el segundo pK_a para el ácido glutárico, que tiene un grupo metileno adicional, es 5.4.

Los valores de pK_a dependen de las propiedades del medio

El pK_a de un grupo funcional también está muy influido por el medio circundante. El medio puede aumentar o disminuir el pK_a con respecto a su valor en agua, en dependencia de si el ácido no disociado, o su base conjugada, es la especie cargada. El efecto de la constante dieléctrica en el pK_a se puede observar al añadir etanol al agua. El pK_a de un ácido carboxílico *aumenta*, mientras que el de una amina *disminuye*, porque el etanol disminuye la capacidad del agua para solvatar una especie cargada. Los valores de pK_a de los grupos disociantes en el interior de las proteínas se ven profundamente afectados por su entorno local, incluida la presencia o ausencia de agua.

CUADRO 2-2 Fuerza relativa de los ácidos monopróticos, dipróticos y tripróticos

Ácido láctico	pK = 3.86		
Ácido acético	pK = 4.76		
Ion amonio	pK = 9.25		
Ácido carbónico	pK_1 = 6.37;	pK_2 = 10.25	
Ácido succínico	pK_1 = 4.21;	pK_2 = 5.64	
Ácido glutárico	pK_1 = 4.34;	pK_2 = 5.41	
Ácido fosfórico	pK_1 = 2.15;	pK_2 = 6.82;	pK_3 = 12.38
Ácido cítrico	pK_1 = 3.08;	pK_2 = 4.74;	pK_3 = 5.40

Nota: Los valores tabulados son los valores pK_a (–log de la constante de disociación).

RESUMEN

- El agua forma grupos unidos por hidrógeno, con sí misma y con otros donantes o aceptores de protones. Los enlaces de hidrógeno son responsables de la tensión superficial, la viscosidad, el estado líquido a temperatura ambiente y la potencia disolvente del agua.
- Los compuestos que contienen O o N pueden servir como donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno.
- Las fuerzas entrópicas determinan que las macromoléculas expongan las regiones polares a una interfaz acuosa y oculten en el interior de la proteína las regiones no polares.
- Los puentes salinos, las interacciones hidrófobas y las fuerzas de Van der Waals participan en el mantenimiento de la estructura molecular.
- El pH es el registro negativo de $[H^+]$. Un pH bajo caracteriza una solución ácida, y un pH alto denota una solución básica.
- La fuerza de los ácidos débiles se expresa mediante pK_a, el registro negativo de la constante de disociación ácida. Los ácidos fuertes tienen valores bajos de pK_a y los ácidos débiles tienen valores altos de pK_a.
- Los tampones resisten un cambio en el pH cuando se producen o consumen protones. La capacidad máxima de amortiguación ocurre a ± 1 unidades de pH a ambos lados de pK_a. Los amortiguadores fisiológicos incluyen bicarbonato, ortofosfato y proteínas.

REFERENCIAS

Reese KM. Whence came the symbol pH. *Chem & Eng News* 2004;82:64.

Segel IM. *Biochemical Calculations.* Wiley; 1968.

Skinner JL. Following the motions of water molecules in aqueous solutions. *Science* 2010;328:985.

Stillinger FH. Water revisited. *Science* 1980;209:451.

Suresh SJ, Naik VM. Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. *J Chem Phys* 2000;113:9727.

Wiggins PM. Role of water in some biological processes. *Microbiol Rev* 1990;54:432.

CAPÍTULO 3

Aminoácidos y péptidos

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Diagramar las estructuras y conocer los códigos de tres y de una letra designados para cada uno de los aminoácidos presentes en las proteínas.
- Proporcionar ejemplos de cómo cada tipo de grupo R de los aminoácidos proteicos contribuye a sus propiedades químicas.
- Enumerar funciones adicionales importantes de los aminoácidos, y explicar cómo ciertos aminoácidos en las semillas de las plantas pueden afectar gravemente la salud humana.
- Nombrar los grupos ionizables de los aminoácidos proteicos y enumerar sus valores aproximados de pK_a como aminoácidos libres en solución acuosa.
- Calcular el pH de una solución acuosa no tamponada de un aminoácido polifuncional, y el cambio en el pH que ocurre después de la adición de una cantidad dada de ácido fuerte o álcali.
- Definir pI y explicar su relación con la carga neta en un electrólito polifuncional.
- Explicar cómo el pH, pK_a y pI se pueden usar para predecir la movilidad de un polielectrólito, tal como un aminoácido en un campo eléctrico de corriente continua.
- Describir la direccionalidad, la nomenclatura y la estructura primaria de los péptidos.
- Describir las consecuencias conformacionales del carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico, e identificar los enlaces en la estructura central del péptido que pueden rotar libremente.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los L-α-aminoácidos proporcionan las unidades monoméricas de las largas cadenas polipéptidas de las proteínas. Además, estos aminoácidos y sus derivados participan en funciones celulares tan diversas como la transmisión nerviosa y la biosíntesis de porfirinas, purinas, pirimidinas y urea. El sistema neuroendocrino emplea polímeros cortos de aminoácidos llamados *péptidos* como hormonas, factores liberadores de hormonas, neuromoduladores y neurotransmisores. Los seres humanos y otros animales superiores no pueden sintetizar 10 de los L-α-aminoácidos presentes en las proteínas en cantidades adecuadas para apoyar el crecimiento infantil, o para mantener la salud de los adultos. En consecuencia, la dieta humana debe contener cantidades adecuadas de estos aminoácidos *nutricionalmente esenciales*. Cada día, los riñones filtran más de 50 g de aminoácidos libres de la sangre renal arterial. Sin embargo, normalmente sólo aparecen rastros de aminoácidos libres en la orina, porque los aminoácidos se reabsorben casi por completo en el túbulo proximal, conservándose para la síntesis de proteínas y otras funciones vitales.

Ciertos microorganismos secretan D-aminoácidos libres, o péptidos que pueden contener tanto D- como L-α-aminoácidos. Varios de estos péptidos bacterianos son de valor terapéutico, incluidos los antibióticos bacitracina y gramicidina A, y el agente antitumoral bleomicina. Sin embargo, algunos otros péptidos microbianos son tóxicos. Los péptidos cianobacterianos microcistina y nodularina son letales en grandes dosis, mientras que en pequeñas cantidades promueven la formación de tumores hepáticos. La ingestión de ciertos aminoácidos presentes en las semillas de las leguminosas del género *Lathyrus* puede dar lugar al latirismo, una enfermedad trágica irreversible en la cual las personas pierden el control de sus extremidades. Otros aminoácidos de semillas de plantas también han sido implicados en enfermedades neurodegenerativas en nativos de Guam.

PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

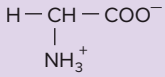
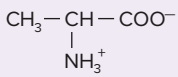
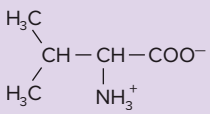
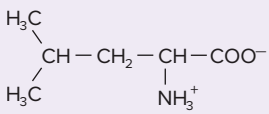
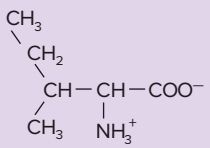
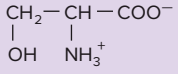
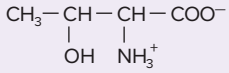
El código genético especifica 20 L-α-aminoácidos

Aunque en la naturaleza se encuentran más de 300 aminoácidos, las proteínas se sintetizan casi exclusivamente a partir de un conjunto de 20 L-α-aminoácidos codificados por tripletes de nucleótidos llamados **codones** (véase cuadro 37-1). Mientras que el código genético de tres letras podría potencialmente acomodar más de 20 aminoácidos, el código genético es *redundante*, ya que varios aminoácidos están especificados por múltiples codones. Los científicos representan con frecuencia las secuencias de péptidos y proteínas usando abreviaturas de una y tres letras para cada aminoácido (**cuadro 3-1**). Los grupos R de aminoácidos se pueden caracterizar ya bien como hidrófilos o como hidrófobos (**cuadro 3-2**), propiedades que afectan su ubicación en la conformación madura plegada de una proteína (véase capítulo 5). Algunas proteínas contienen aminoácidos adicionales que surgen por la modificación **postraduccional** de un aminoácido ya presente en un péptido. Los ejemplos incluyen la conversión de peptidil prolina y peptidil lisina en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina; la conversión de peptidil glutamato a γ-carboxiglutamato, y la metilación, formilación, acetilación, prenilación y fosforilación de ciertos residuos de aminoacilo. Estas modificaciones extienden significativamente la diversidad biológica de las proteínas al alterar su solubilidad, estabilidad, actividad catalítica e interacción con otras proteínas.

Selenocisteína, la proteína 21 L-α-aminoácido

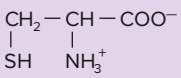
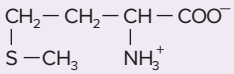
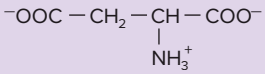
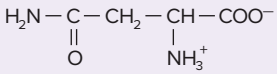
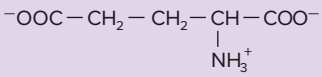
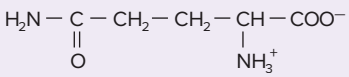
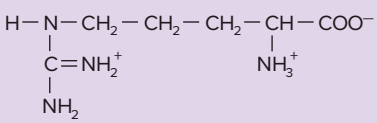
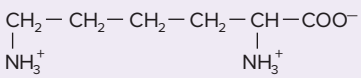
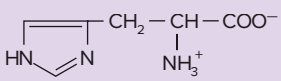
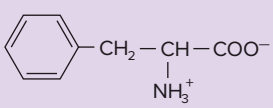
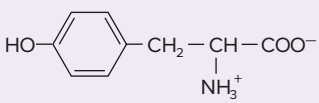
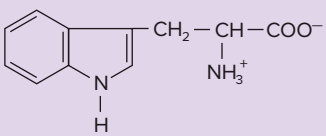
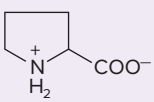
La selenocisteína (**figura 3-1**) es un L-α-aminoácido presente en las proteínas de todos los ámbitos de la vida. Los seres humanos contienen aproximadamente dos docenas de selenoproteínas que incluyen ciertas peroxidasas y reductasas, la selenoproteína P, que circula en el plasma, y las yodotironinas desyodinasas, responsables de convertir la prohormona tiroxina (T_4) a la hormona tiroidea

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en las proteínas

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales alifáticas			**α-COOH**	**α-NH_2^+**	**Grupo R**
Glicina	Gly [G]		2.4	9.8	
Alanina	Ala [A]		2.4	9.9	
Valina	Va l[V]		2.2	9.7	
Leucina	Leu [L]		2.3	9.7	
Isoleucina	Ile [T]		2.3	9.8	
Con cadenas laterales que contienen grupos hidroxilo (OH)					
Serina	Ser [S]		2.2	9.2	Aprox. 13
Treonina	Thr [T]	 Véase adelante	2.1	9.1	Aprox. 13
Tirosina	Tyr [Y]	Véase adelante			

(*continúa*)

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en las proteínas (*continuación*)

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales que contienen átomos de azufre					
Cisteína	Cys [C]		1.9	10.8	8.3
Metionina	Met [M]		2.1	9.3	
Con cadenas laterales que contienen grupos ácidos o sus amidas					
Ácido aspártico	Asp [D]		2.1	9.9	3.9
Asparagina	Asn [N]		2.1	8.8	
Ácido glutámico	Glu [E]		2.1	9.5	4.1
Glutamina	Gin [Q]		2.2	9.1	
Con cadenas laterales que contienen grupos básicos					
Argina	Arg [R]		1.8	9.0	12.5
Lisina	Lys [K]		2.2	9.2	10.8
Histidina	His [H]		1.8	9.3	6.0
Que contienen anillos aromáticos					
Histidina	His [H]	Véase arriba			
Fenilalanina	Phe [F]	Véase arriba 	2.2	9.2	
Tirosina	Try [Y]		2.2	9.1	10.1
Triptófano	Trp [W]		2.4	9.4	
Iminoácido					
Prolina	Pro [P]		2.0	10.6	

CUADRO 3-2 Aminoácidos hidrófilos e hidrófobos

Hidrófilos	Hidrófobos
Arginina	Alanina
Asparagina	Isoleucina
Ácido aspártico	Leucina
Cisteína	Metionina
Ácido glutámico	Fenilalanina
Glutamina	Prolina
Glicina	Triptófano
Histidina	Tirosina
Lisina	Valina
Serina	
Treonina	

La distinción se basa en la tendencia a asociarse, o a minimizar el contacto, con un ambiente acuoso.

3,3′5-triyodotironina (T_3) (véase capítulo 41). La peptidil selenocisteína no es el producto de una modificación postraduccional, sino que se inserta de modo directo en un polipéptido en crecimiento durante la *traducción*. La selenocisteína se denomina comúnmente el "aminoácido 21". Sin embargo, a diferencia de los otros 20 aminoácidos proteicos, la incorporación de selenocisteína está especificada por un elemento genético grande y complejo para el inusual tRNA llamado $tRNA^{Sec}$, que utiliza el anticodón UGA que normalmente señala PARE. Sin embargo, el mecanismo de la proteína sintetizada puede identificar un codón UGA específico de selenocisteína por la presencia de una estructura horquilla acompañante, el elemento de inserción de la selenocisteína, en la región no traducida del mRNA (véase capítulo 27).

Estereoquímica de los aminoácidos proteicos

Con la única excepción de la glicina, el carbono α de cada aminoácido es quiral. Aunque algunos aminoácidos proteicos son dextrógiros y algunos levógiros, todos comparten la configuración absoluta del L-gliceraldehído y, por tanto, se definen como L-α-aminoácidos. Aunque casi todos los aminoácidos proteicos son (*R*), el fracaso de usar (*R*) o (*S*) para expresar la estereoquímica *absoluta* no es una mera aberración histórica. La L-cisteína es (*S*) ya que la masa atómica del átomo de azufre en C3 excede la del grupo amino en C2. Con mayor significancia, en los mamíferos las reacciones bioquímicas de los L-α-aminoácidos, sus precursores y sus catabolitos, son catalizadas por enzimas que actúan exclusivamente sobre los isómeros L, con independencia de su configuración absoluta.

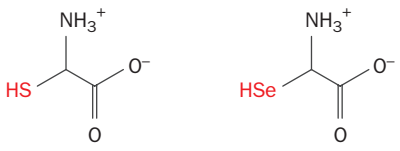


FIGURA 3-1 Cisteína (izquierda) y selenocisteína (derecha). El pK_3 para el protón selenil de la selenocisteína es 5.2. Como son tres unidades pH por debajo de la cisteína, la selenocisteína representa un nucleófilo mejor a pH 7.4 o menor.

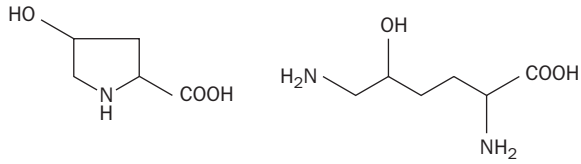


FIGURA 3-2 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina.

Las modificaciones postraduccionales confieren propiedades adicionales

Mientras que algunos procariotas incorporan pirrolisina en las proteínas, y las plantas pueden incorporar ácido azetidina-2-carboxílico, un análogo de la prolina, un conjunto de sólo 21 L-α-aminoácidos es claramente suficiente para la formación de la mayoría de las proteínas. Las modificaciones postraduccionales pueden, sin embargo, generar nuevos grupos R que impartan propiedades adicionales. En el colágeno, los residuos de prolina y lisina unidos a proteínas se convierten en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina (**figura 3-2**). La carboxilación de los residuos de glutamil de las proteínas de la cascada de la coagulación de la sangre a los residuos de γ-carboxiglutamilo (**figura 3-3**) forma un grupo quelante para el ion de calcio, esencial para la coagulación de la sangre. Las cadenas laterales de aminoácidos de las histonas están sujetas a numerosas modificaciones, incluidas la acetilación y la metilación de la lisina, y la metilación y la desaminación de la arginina (véanse capítulos 35 y 37). En la actualidad también es posible en el laboratorio introducir genéticamente muchos aminoácidos diferentes no naturales en las proteínas, generar proteínas a través de la expresión génica recombinante con propiedades nuevas o mejoradas, y proporcionar una nueva forma de explorar las relaciones estructura-función de las proteínas.

Se han detectado aminoácidos extraterrestres en los meteoritos

En febrero de 2013 la explosión de un meteorito de aproximadamente 20 000 toneladas métricas en los cielos sobre Chelyabinsk, Siberia Occidental, demostró de forma espectacular su potencial poder destructivo. Sin embargo, algunos meteoritos, los remanentes de asteroides que han llegado a la Tierra, contienen rastros de varios aminoácidos α. Éstos incluyen los aminoácidos de proteínas Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Leu, Phe, Ser, Thr, Tyr y Val, así como α-aminoácidos no proteínicos biológicamente importantes tales como *N*-metilglicina (sarcosina) y β-alanina.

Los aminoácidos extraterrestres se informaron por primera vez en 1969, tras el análisis del famoso meteorito Murchison del sudeste de Australia. La presencia de aminoácidos en otros meteoritos, incluidos algunos ejemplares vírgenes de la Antártida, se ha confirmado ahora ampliamente. A diferencia de los aminoácidos terrestres, estos meteoritos contienen mezclas racémicas de isóme-

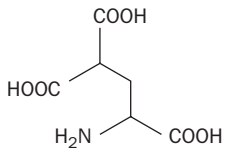


FIGURA 3-3 Ácido γ-carboxiglutámico.

ros D y L de aminoácidos con 3 a 5 carbonos, así como muchos aminoácidos adicionales que carecen de contrapartes terrestres de origen biótico. También se han detectado en meteoritos nucleobases, fosfatos activados y moléculas relacionadas con azúcares. Estos hallazgos ofrecen perspectivas potenciales sobre la química prebiótica de la Tierra, e impactan en la búsqueda de vida extraterrestre. Algunos especulan que los meteoritos pueden haber contribuido al origen de la vida en nuestro planeta, al entregar a la Tierra moléculas orgánicas generadas en el exterior.

Los L-α-aminoácidos cumplen funciones metabólicas adicionales

Los L-α-aminoácidos cumplen funciones metabólicas vitales, además de servir como "bloques de construcción" de las proteínas. Por ejemplo, la tirosina es un precursor de la hormona tiroidea, y tanto la tirosina como la fenilalanina se metabolizan a adrenalina, noradrenalina y dihidroxifenilalanina (DOPA, *dihydroxyphenylalanine*). El glutamato es un neurotransmisor y el precursor del ácido γ-aminobutírico (GABA, γ-*aminobutyric acid*). La ornitina y la citrulina son intermediarias en la biosíntesis de la urea, y la homocisteína, la homoserina y el glutamato-γ-semialdehído son intermediarios en el metabolismo de los aminoácidos proteicos.

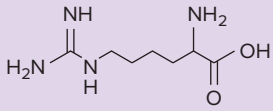
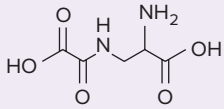
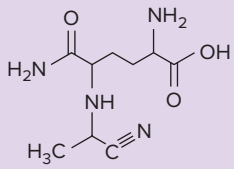
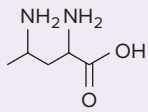
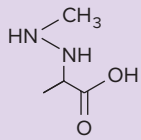
Determinados L-α-aminoácidos de las plantas pueden afectar negativamente la salud humana

El consumo de plantas que contienen ciertos aminoácidos no proteicos puede tener un impacto adverso en la salud humana. Las semillas y los productos de siembra de tres especies de la leguminosa *Lathyrus* han sido implicados en la génesis del **neurolatirismo**, un desorden neurológico profundo caracterizado por la parálisis espasmódica progresiva e irreversible de las piernas. El latirismo ocurre ampliamente durante las hambrunas, cuando las semillas de *Lathyrus* representan una contribución importante a la dieta. Los L-α-aminoácidos que han sido implicados en trastornos neurológicos humanos, en particular los neurolatirismos, incluyen la L-homoarginina y el ácido β-*N*-oxalil-L-α,β-diaminopropiónico (β-ODAP, *β-oxalyl-L-α,β-diaminopropionic*, **cuadro 3-3**). Las semillas del "guisante dulce", una leguminosa de *Lathyrus* consumida ampliamente durante las hambrunas, contienen el osteolatinógeno γ-glutamil-β-aminopropionitrilo (BAPN, *β-aminopropionitrile*), un derivado de la glutamina de β-aminopropionitrilo (estructura no mostrada). Las semillas de ciertas especies de *Lathyrus* también contienen ácido α,γ-diaminobutírico, que como un análogo de la ornitina inhibe la enzima del ciclo de la urea hepática transcarbamilasa, interrumpe el ciclo de la urea y conduce a la toxicidad del amoniaco. Finalmente, la L-β-metilaminoalanina, un aminoácido neurotóxico que está presente en las semillas de *Cycad*, ha sido implicado como un factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas, incluyendo esclerosis lateral amiotrófica, complejo de demencia de Parkinson, en nativos de Guam que consumen harina hecha de semillas de cícada, o comen murciélagos fruteros que se alimentan de cícadas.

D-aminoácidos

Los D-aminoácidos que se producen de forma natural incluyen D-serina y D-aspartato en el tejido cerebral humano, D-alanina y D-glutamato en las paredes celulares de bacterias grampositivas, y D-aminoácidos en ciertos péptidos y antibióticos producidos por bacterias, hongos, reptiles y anfibios. *Bacillus subtilis* excreta D-metionina, D-tirosina, D-leucina y D-triptófano para desencadenar el desensamblaje de la biopelícula, y *Vibrio cholerae* incorpora D-leucina y D-metionina en el componente peptídico de su capa de peptidoglicano.

CUADRO 3-3 L-α-aminoácidos potencialmente tóxicos

L-α-aminoácidos no proteicos	Relevancia médica
 **Homoarginina**	Dividido por la arginasa a L-lisina y urea. Implicada en el neurolatirismo humano.
 **Ácido β-*N*-oxalil diaminopropiónico (β-ODAP)**	Neurotoxina implicada en el neurolatirismo humano.
 **β-*N*-Glutamilaminopropiononitrilo (BAPN)**	Un osteolatiónico.
 **Ácido 2,4-diaminobutírico**	Inhibe la ornitina transcarbamilasa, lo que resulta en toxicidad por amoniaco.
 **β-Metilaminoalanina**	Posible factor de riesgo para enfermedades neurodegenerativas.

PROPIEDADES DE LOS GRUPOS FUNCIONALES DE AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos pueden tener una carga neta positiva, negativa o nula

En solución acuosa, las formas cargadas y no cargadas de los grupos de ácido débil ionizables —COOH y —NH_3^+ existen en equilibrio protónico dinámico:

$$R—COOH \leftrightarrows R—COO^- + H^+$$
$$R—NH_3^+ \leftrightarrows R—NH_2 + H^+$$

Aunque tanto el R—COOH como R—NH_3^+ son ácidos débiles, el R—COOH es un ácido mucho más fuerte que el R—NH_3^+. Por tanto, en un pH fisiológico (pH 7.4), los grupos carboxilo existen casi en su totalidad como R—COO^-, y los grupos amino predominantemente como R—NH_3^+. El grupo imidazol de histidina y el grupo guanidino de arginina existen como híbridos de resonancia, con carga positiva

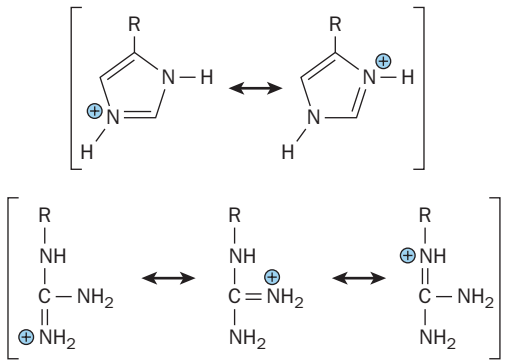
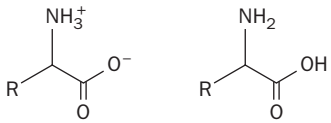


FIGURA 3-4 **Híbridos de resonancia de los grupos R protonados de histidina (arriba) y arginina (abajo).**

distribuida entre dos nitrógenos (histidina), o tres nitrógenos (arginina) (**figura 3-4**). La **figura 3-5** ilustra el efecto del pH del entorno acuoso en el estado cargado del ácido aspártico.

Las moléculas que contienen un número igual de grupos con cargas positiva y negativa no tienen carga *net*a. Estas especies neutras ionizadas se denominan **zwitteriones**. Así, los aminoácidos en la sangre y en la mayoría de los tejidos se deberían representar como en **A**, abajo.



A **B**

La estructura **B** no puede existir en solución acuosa porque a cualquier pH bajo, suficiente como para protonar el grupo carboxilo, el grupo amino también estaría protonado. De manera similar, a cualquier pH lo suficiente alto para que predomine un grupo amino no cargado, un grupo carboxilo estará presente como R—COO^-. Sin embargo, la **B** no cargada se usa a menudo cuando se grafican reacciones que no implican equilibrios protónicos.

Los valores de pK_a expresan las fortalezas de los ácidos débiles

Las fortalezas de los ácidos débiles se expresan como su **pK_a**. Para las moléculas con múltiples protones disociables, el pK_a para cada grupo ácido se designa reemplazando el subíndice "a" con un número. La carga neta sobre un aminoácido —la suma algebraica de todos los grupos cargados positiva y negativamente— depende de los valores de pK_a de sus grupos funcionales y del pH del medio circundante. En el laboratorio, alterar la carga de aminoácidos y sus derivados variando el pH facilita la separación física de aminoácidos, péptidos y proteínas (véase capítulo 4).

A su pH isoeléctrico (pI), un aminoácido no posee carga neta

Los zwitteriones son un ejemplo de una especie **isoeléctrica**: la forma de una molécula que tiene un número igual de cargas positivas y negativas, y por tanto es eléctricamente neutra. El pH isoeléctrico, también llamado pI, es el pH a medio camino entre los valores de pK_a para las ionizaciones en cualquier lado de la especie isoeléctrica. Para un aminoácido como la alanina, que sólo tiene dos grupos disociantes, no hay ambigüedad. El primer pK_a (R—COOH) es 2.35 y el segundo pK_a (R—NH_3^+) es 9.69. Así, el pH isoeléctrico (pI) de la alanina es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.35 + 9.69}{2} = 6.02$$

Para los ácidos polipróticos, el pI también es el pH a medio camino entre los valores de pK_a en cualquier lado de la especie isoiónica. Por ejemplo, el pI para el ácido aspártico es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.09 + 3.96}{2} = 3.02$$

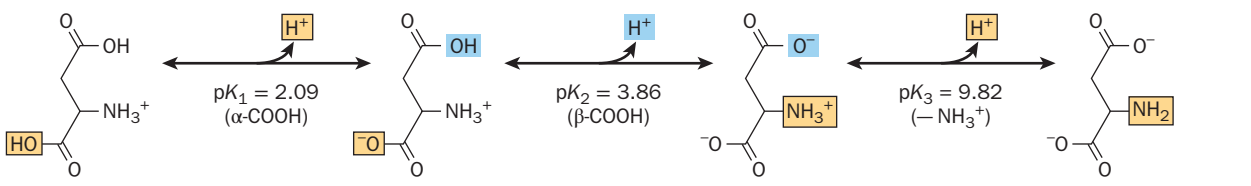
Para la lisina, el pI se calcula a partir de:

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_2 + \text{p}K_3}{2}$$

Consideraciones similares se aplican a todos los ácidos polipróticos (p. ej., proteínas), con independencia del número de grupos disociables presentes. En el laboratorio clínico el conocimiento de las guías pI selecciona las condiciones para las separaciones electroforéticas. La electroforesis a pH 7.0 separará dos moléculas con valores de pI de 6.0 y 8.0, porque la molécula con un pI de 6.0 tendrá una carga neta *positiva*, y con un pI de 8.0 una carga *negativa* neta. Consideraciones similares subyacen a las separaciones cromatográficas en soportes iónicos como la dietilaminoetil (DEAE, *diethylaminoethyl*) celulosa (véase capítulo 4).

Los valores de pK_a varían con el entorno

El entorno de un grupo disociable afecta a su pK_a (**cuadro 3-4**). Un entorno no polar, que posee menos capacidad que el agua para es-



A
En ácido fuerte
(por debajo de pH 1);
carga neta = +1

B
Alrededor de pH 3;
carga neta = 0

C
Alrededor de pH 6-8;
carga neta = –1

D
En álcali fuerte
(por encima de pH 11);
carga neta = –2

FIGURA 3-5 **Equilibrio protónico del ácido aspártico.**

CUADRO 3-4 Rango típico de valores p*K* para grupos ionizables en proteínas

Grupo disociador	Rango pK_a
α-carboxil	3.5-4.0
No-α COOH de Asp o Glu	4.0-4.8
Imidazol de His	6.5-7.4
SH de Cys	8.5-9.0
OH de Tyr	9.5-10.5
α-amino	8.0-9.0
e-amino de Lys	9.8-10.4
Guanidinio de Arg	~12.0

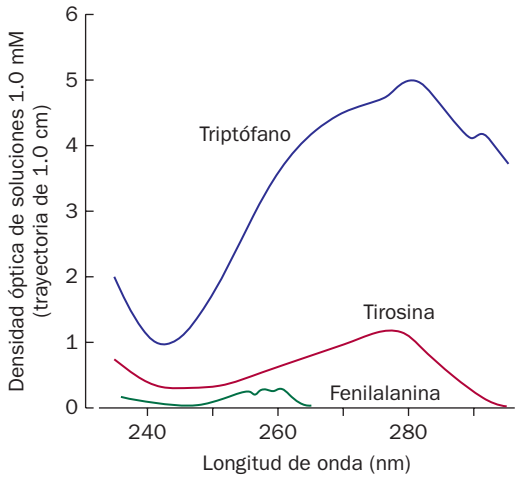


FIGURA 3-6 Espectros de absorción ultravioleta del triptófano, tirosina y fenilalanina.

tabilizar las especies cargadas, *incrementa* por tanto el pK_a de un grupo carboxilo haciéndolo un ácido más débil, pero *reduce* el pK_a de un grupo amino y lo convierte en un ácido más *fuerte*. De forma similar, la presencia de un grupo adyacente con carga *opuesta* puede *estabilizar* una carga en desarrollo, o un grupo cargado de forma *similar* puede *desestabilizar* esa carga. Por tanto, los valores de pK_a de los grupos R de aminoácidos *libres* en solución acuosa (véase cuadro 3-1) proporcionan sólo una guía aproximada de sus valores de pK_a cuando están presentes en las proteínas. El pK_a de un grupo R disociable dependerá de su ubicación dentro de una proteína. Los valores de pK_a que divergen de la solución acuosa hasta en 3 unidades de pH son comunes en los sitios activos de las enzimas. Un ejemplo extremo, un ácido aspártico de tiorredoxina enterrado tiene un pK_a superior a 9, ¡un cambio de más de 6 unidades de pH!

La solubilidad de los aminoácidos refleja su carácter iónico

Las cargas conferidas por los grupos funcionales disociables de aminoácidos aseguran que ellos sean solvatados fácilmente —y sean solubles— por disolventes polares como el agua y el etanol, pero insolubles en disolventes no polares como el benceno, hexano o éter.

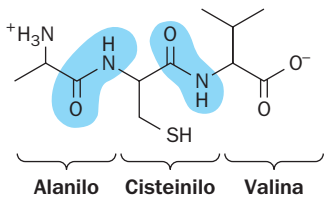
Los aminoácidos no absorben la luz visible y, por tanto, son incoloros. Sin embargo, la tirosina, la fenilalanina y el triptófano absorben la luz ultravioleta de alta longitud de onda (250-290 nm). Debido a que absorbe la luz ultravioleta aproximadamente 10 veces con más eficiencia que la fenilalanina o la tirosina, el triptófano realiza la mayor contribución a la capacidad de la mayoría de las proteínas para absorber la luz en la región de 280 nm (**figura 3-6**).

LOS GRUPOS α-R DETERMINAN LAS PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

Cada grupo funcional de un aminoácido exhibe todas sus reacciones químicas características. En los grupos de ácido carboxílico, estas reacciones incluyen la formación de ésteres, amidas y anhídridos de ácido; en los grupos amino, acilación, amidación y esterificación; y en los grupos —OH y —SH, oxidación y esterificación. Dado que la glicina, el aminoácido más pequeño, se puede alojar en lugares inaccesibles a otros aminoácidos, a menudo se encuentra donde los péptidos se pliegan bruscamente. Los grupos R hidrófobos de alanina, valina, leucina e isoleucina, y los grupos aromáticos R de fenilalanina, tirosina y triptófano, aparecen sobre todo en el interior de las proteínas citosólicas. Los grupos R cargados de aminoácidos básicos y ácidos estabilizan las conformaciones de proteínas específicas mediante interacciones iónicas o puentes salinos. Estas interacciones también funcionan en los sistemas "reguladores de carga", durante la catálisis enzimática y el transporte de electrones en las mitocondrias que respiran. La histidina desempeña un papel único en la catálisis enzimática. El pK_a de su protón de imidazol permite que la histidina funcione a pH neutro, como catalizador base o ácido, sin la necesidad de algún cambio inducido de modo ambiental. El grupo de alcohol primario de serina y el grupo de cisteína de tioalcohol primario (—SH) son excelentes nucleófilos, y pueden funcionar como tales durante la catálisis enzimática. Para la selenocisteína, su pK_3 de 5.2 es tres unidades de pH más bajas que las de la cisteína, 8.3. A un pH claramente ácido, la selenocisteína debería ser el mejor nucleófilo. Sin embargo, el grupo de alcohol secundario de la treonina, aunque es un buen nucleófilo, no se sabe que cumpla esta función en la catálisis. Los grupos —OH de serina, tirosina y treonina a menudo sirven como puntos de unión covalente para los grupos fosforilo que regulan la función proteica (véase capítulo 9).

La secuencia de aminoácidos determina la estructura primaria

Los aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos.



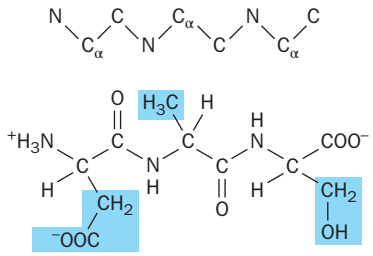
El *número* y el *orden* de los residuos de aminoácidos en un polipéptido constituyen su **estructura** *primaria*. Los aminoácidos presentes en los péptidos, llamados *residuos de aminoacilo*, se denominan reemplazando los sufijos *ico* o *ina* de los aminoácidos libres por *ilo* (p. ej., alan*ilo*, aspart*ilo*, tiros*ilo*). Luego los péptidos se nombran como derivados del resto aminoacilo *carboxi* terminal. Por ejemplo, Lys-Leu-Tyr-Gln se llama lis*ilo*-leuc*ilo*-tiros*ilo*-glutam*ina*. La terminación *ina* en el residuo *carboxi*-terminal (p. ej., glutam*ina*) indica que su grupo α-carboxilo *no* está implicado en un enlace peptídico. Las abreviaturas de tres letras unidas por líneas rectas representan una estructura primaria inequívoca. Las líneas se omiten cuando se utilizan abreviaturas de una sola letra.

Glu—Ala—Lys—Gly—Tyr—Ala
E A K G Y A

Prefijos como *tri*, u *octa*, denotan péptidos con tres u ocho *residuos*, respectivamente. Por convención, los péptidos se escriben con el residuo que porta el grupo α-amino libre a la izquierda. Esta convención se adoptó mucho antes de que se descubriera que los péptidos se sintetizan *in vivo* a partir del residuo amino-terminal.

Las estructuras de péptidos son fáciles de dibujar

Para dibujar un péptido, use un zigzag para representar la cadena principal o columna vertebral. Agregue los átomos de la cadena principal, que se producen en el orden de repetición: α-nitrógeno, α-carbono, carbono carbonilo. Ahora agregue un átomo de hidrógeno a cada carbono α y a cada nitrógeno péptido, luego agregue un oxígeno al carbono carbonilo. Finalmente, agregue los grupos R apropiados (sombreados) a cada átomo de carbono α.



Algunos péptidos contienen aminoácidos inusuales

En los mamíferos las hormonas de péptidos normalmente contienen sólo los 20 aminoácidos especificados en el codón, unidos por enlaces peptídicos estándares. Sin embargo, otros péptidos pueden contener aminoácidos no proteicos derivados de los aminoácidos proteicos, o aminoácidos unidos por un enlace peptídico atípico. Por ejemplo, el glutamato amino terminal del glutatión, un tripéptido que participa en el metabolismo de los xenobióticos (véase capítulo 47) y en la reducción de los enlaces disulfuro, está relacionado con la cisteína por un enlace peptídico no α (**figura 3-7**). El glutamato amino terminal de la hormona liberadora de tirotropina (TRH, *thyrotropin-releasing hormone*) se cicla a ácido piroglutámico, y el grupo carboxilo del residuo prolilo carboxilo terminal se amida. Los aminoácidos no proteicos D-fenilalanina y ornitina están presentes en los péptidos cíclicos antibióticos tirocidina y gramicidina S, mientras que los heptapéptidos opiáceos dermorfina y deltoforina, en la piel de las ranas arborícolas de América del Sur, contienen D-tirosina y D-alanina.

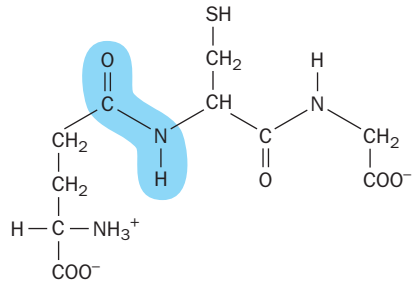
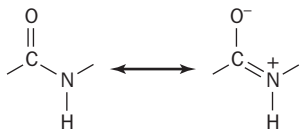


FIGURA 3-7 **Glutatión (γ-glutamil-cisteinil-glicina).** Obsérvese el enlace peptídico no α que une Glu a Cys.

El enlace peptídico tiene carácter parcial de doble enlace

Aunque las estructuras peptídicas se escriben como si un enlace único vinculase los átomos de α-carboxilo y α-nitrógeno, este enlace exhibe de hecho un carácter de doble enlace parcial:



Por tanto, el enlace que conecta un carbono de carbonilo con el nitrógeno α no puede rotar, ya que esto requeriría romper el doble enlace parcial. En consecuencia, los átomos O, C, N y H de un enlace peptídico son *coplanares*. La semirrigidez impuesta del enlace peptídico tiene consecuencias importantes para la manera en que péptidos y proteínas se pliegan para generar órdenes superiores de estructura. Las flechas de color marrón en forma de anillo indican rotación libre alrededor de los enlaces restantes de la cadena principal del polipéptido (**figura 3-8**).

Las fuerzas no covalentes restringen las conformaciones de péptidos

El plegamiento de un péptido probablemente ocurre coincidiendo con su biosíntesis (véase capítulo 37). La madura y fisiológicamente activa conformación refleja las contribuciones colectivas de la secuencia de aminoácidos, las interacciones no covalentes (p. ej., enlaces de hidrógeno, interacciones hidrófobas) y la minimización del impedimento estérico entre los residuos. Las conformaciones repetitivas comunes incluyen hélices α y láminas plegadas β (véase capítulo 5).

Los péptidos son polielectrólitos

El enlace peptídico no posee carga a cualquier pH de interés fisiológico. Por tanto, la formación de péptidos a partir de aminoácidos va acompañada de una pérdida neta de una carga positiva y una carga negativa por enlace peptídico formado. Sin embargo, los péptidos se cargan a pH fisiológico, debido a sus grupos terminales carboxilo y amino y, cuando están presentes, sus grupos R ácidos o básicos. En cuanto a los aminoácidos, la carga neta de un péptido

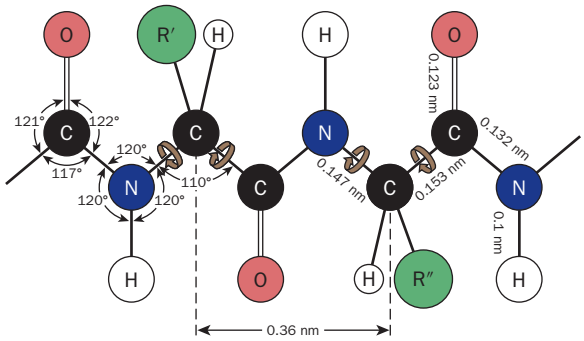


FIGURA 3-8 Dimensiones de una cadena polipeptídica completamente extendida. Los cuatro átomos del enlace peptídico son coplanares. Se puede producir rotación libre sobre los enlaces que conectan el carbono α con el nitrógeno α y con el carbono α-carbonilo (**flechas marrones**). La cadena polipeptídica extendida es, por tanto, una estructura semirrígida con dos tercios de los átomos de la cadena principal mantenidos en una relación planar fija entre sí. La distancia entre los átomos de carbono α adyacentes es 0.36 nm (3.6 Å). También se muestran las distancias interatómicas y los ángulos de enlace, que no son equivalentes. (Redibujada y reproducida con permiso de Pauling L, Corey LP, Branson HR. The structure of proteins: two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1951;37:205.)

depende del pH de su entorno y de los valores pK_a de sus grupos disociantes.

RESUMEN

- Tanto los D-aminoácidos como los no-α-aminoácidos se encuentran en la naturaleza, pero las proteínas se sintetizan usando sólo L-α-aminoácidos. No obstante, los D-aminoácidos cumplen funciones metabólicas, no sólo en las bacterias, sino también en humanos.
- Los L-α-aminoácidos cumplen funciones metabólicas vitales además de la síntesis de proteínas. Los ejemplos incluyen la biosíntesis de urea, hemo, ácidos nucleicos y hormonas como adrenalina y DOPA.
- La presencia en los meteoritos de pequeñas cantidades de muchos aminoácidos proteicos da crédito a la hipótesis de que los choques de asteroides podrían haber contribuido al desarrollo de la vida en la Tierra.
- Algunos de los L-α-aminoácidos presentes en plantas y en sus semillas pueden tener efectos nocivos en la salud humana, por ejemplo, en el latirismo.
- Los grupos R de aminoácidos determinan sus funciones bioquímicas únicas. Los aminoácidos se clasifican en básicos, ácidos, aromáticos, alifáticos o azufrados según la composición y las propiedades de sus grupos R.
- El carácter de doble enlace parcial del enlace que une el carbono del carbonilo y el nitrógeno de un péptido hace que los cuatro átomos del enlace peptídico sean *coplanares*, y por tanto restringe el número de posibles conformaciones peptídicas.
- Los péptidos se nombran por el número de residuos de aminoácidos presentes y como derivados del residuo carboxilo terminal. La estructura primaria de un péptido es su secuencia de aminoácidos, comenzando desde el residuo amino terminal, dirección en que realmente se sintetizan los péptidos *in vivo*.
- Todos los aminoácidos poseen al menos dos grupos funcionales débilmente ácidos, R—NH_3^+ y R—COOH. Muchos también poseen grupos funcionales adicionales débilmente ácidos tales como restos fenólicos de —OH, —SH, guanidino o imidazol.
- Los valores de pK_a de todos los grupos funcionales de un aminoácido o de un péptido determinan su carga neta a un pH dado. El pI, o pH isoeléctrico, es el pH al que un aminoácido no aporta carga neta, y por tanto no se mueve en un campo eléctrico de corriente continua.
- Los valores de pK_a de los aminoácidos libres, en el mejor de los casos, sólo se aproximan a sus valores de pK_a cuando están presentes en una proteína, y pueden diferir ampliamente debido a la influencia de su entorno en una proteína.

REFERENCIAS

Bender DA. *Amino Acid Metabolism*. 3rd ed. Wiley; 2012.

Burton AS, Stern JC, Elsila JE, *et al*. Understanding prebiotic chemistry through the analysis of extraterrestrial amino acids and nucleobases in meteorites. *Chem Soc Rev* 2012;41:5459.

deMunck E, Muñoz-Sáez E, Miguel BG, *et al*. β-*N*-Methylamino L-alanine causes neurological and pathological phenotypes mimicking amyotrophic lateral sclerosis (ALS): The first step towards an experimental model for sporadic ALS. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013;36:243.

Kolodkin-Gal I. D-Amino acids trigger biofilm disassembly. *Science* 2010;328:627.

CAPÍTULO 4

Proteínas: determinación de la estructura primaria

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Citar tres ejemplos de modificaciones postraduccionales que comúnmente ocurren durante la maduración de un polipéptido recién sintetizado.
- Nombrar cuatro métodos cromatográficos comúnmente empleados para el aislamiento de proteínas de materiales biológicos.
- Describir cómo se puede usar la electroforesis en geles de poliacrilamida para determinar la pureza, la composición de la subunidad, la masa relativa y el punto isoeléctrico de una proteína.
- Describir la base sobre la cual los espectrómetros de cuadrupolo y tiempo de vuelo (TOF, *time-of-flight*) determinan la masa molecular.
- Comparar las fortalezas y debilidades respectivas de la clonación de DNA y la espectrometría de masas (MS, *mass spectrometry*) como herramientas para determinar la estructura primaria de la proteína.
- Explicar qué se entiende por "el proteoma" y citar ejemplos de su importancia potencial.
- Describir las ventajas y limitaciones de los chips de genes como una herramienta para controlar la expresión de proteínas.
- Describir tres estrategias para resolver proteínas individuales y péptidos a partir de muestras biológicas complejas para facilitar su identificación por MS.
- Comentar sobre las contribuciones de la genómica, los algoritmos informáticos y las bases de datos a la identificación de los marcos abiertos de lectura (ORF, *open reading frames*) que codifican una proteína determinada.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas son macromoléculas complejas física y funcionalmente que desempeñan múltiples funciones de suma importancia. Una red interna de proteínas, el citoesqueleto (véase capítulo 51) mantiene la forma y la integridad física de una célula.

Los filamentos de actina y miosina forman la maquinaria contráctil del músculo (véase capítulo 51). La hemoglobina transporta oxígeno (véase capítulo 6), mientras que los anticuerpos circulantes nos defienden de los invasores externos (véase capítulo 52). Las enzimas catalizan reacciones que generan energía, sintetizan y degradan biomoléculas, replican y transcriben genes, procesan mRNA, etc. (véase capítulo 7). Los receptores permiten a las células detectar y responder a las hormonas y a otras señales extracelulares (véanse capítulos 41 y 42). Las proteínas están sujetas a cambios físicos y funcionales que reflejan el ciclo de vida de los organismos en los que residen. Una proteína típica "nace" en la traducción (véase capítulo 37), madura a través de eventos de procesos postraduccionales como la proteólisis (véanse capítulos 9 y 37), alterna entre estados de trabajo y descanso mediante la intervención de factores reguladores (véase capítulo 9), envejece por oxidación, desamidación, etc. (véase capítulo 58) y "muere" cuando se degrada a su componente aminoácido (véase capítulo 29).

Un objetivo importante de la medicina molecular es identificar biomarcadores tales como proteínas y/o modificaciones a proteínas cuya presencia, ausencia o deficiencia se asocia con estados o enfermedades fisiológicas específicas (**figura 4-1**).

LAS PROTEÍNAS Y LOS PÉPTIDOS DEBEN SER PURIFICADOS ANTES DEL ANÁLISIS

La proteína altamente purificada es esencial para el examen detallado de sus propiedades físicas y funcionales. Las células contienen miles de proteínas diferentes, cada una en cantidades ampliamente variables. El aislamiento de una proteína específica en

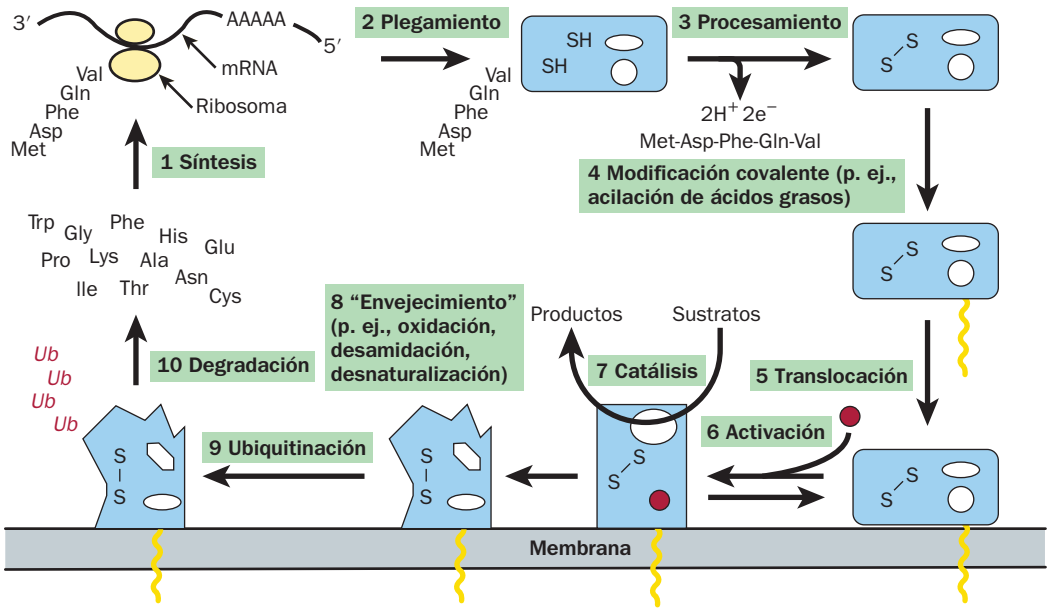


FIGURA 4-1 Representación diagramática del ciclo de vida de una proteína hipotética. 1) El ciclo de vida comienza con la síntesis en un ribosoma de una cadena polipeptídica, cuya estructura primaria está dictada por un mRNA. 2) A medida que avanza la síntesis, el polipéptido comienza a plegarse en su conformación nativa (azul). 3) El plegamiento puede estar acompañado por eventos de procesos tales como la escisión proteolítica de una secuencia del extremo ***N***-terminal (Met-Asp-Phe-Gln-Val) o la formación de enlaces disulfuro (S-S). 4) Las modificaciones covalentes posteriores pueden, por ejemplo, unir una molécula de ácido graso (amarillo) para 5) la translocación de la proteína modificada a una membrana. 6) La unión de un efector alostérico (rojo) puede desencadenar la adopción de una conformación catalíticamente activa. 7) Con el tiempo, las proteínas se dañan por ataque químico, desamidación o desnaturalización, y 8) pueden ser "etiquetadas" por la unión covalente de varias moléculas de ubiquitina (Ub, *ubiquitin*). 9) La proteína ubiquitinada se degrada posteriormente a sus componentes aminoácidos, que están disponibles para la síntesis de nuevas proteínas.

cantidades suficientes para el análisis de sus propiedades presenta así un reto formidable que puede requerir la aplicación sucesiva de múltiples técnicas de purificación. La precipitación selectiva explota las diferencias en la solubilidad relativa de las proteínas individuales en función del pH (precipitación isoeléctrica), la polaridad (precipitación con etanol o acetona) o la concentración de sal (salificación con sulfato de amonio). Las técnicas cromatográficas separan una proteína de otra basándose en la diferencia de su tamaño (cromatografía de exclusión por tamaño), carga (cromatografía de intercambio iónico), hidrofobicidad (cromatografía de interacción hidrófoba) o la capacidad de unirse a un ligando específico (cromatografía de afinidad).

Cromatografía en columna

En la cromatografía en columna, la matriz de fase estacionaria consiste en pequeñas perlas cargadas en un recipiente cilíndrico de vidrio, plástico o acero llamado columna. Los soportes permeables a los líquidos confinan las cuentas dentro de este espacio mientras permiten que el líquido de fase móvil fluya o se filtre a través de la columna. Las perlas de fase estacionaria pueden ser derivatizadas químicamente para recubrir su superficie con los grupos ácidos, básicos, hidrófobos o ligandos requeridos para el intercambio iónico, la interacción hidrófoba o la cromatografía de afinidad. A medida que el líquido de la fase móvil emerge de la columna se recoge automáticamente como una serie de pequeñas porciones llamadas fracciones. La **figura 4-2** representa la preparación básica de un sistema simple de cromatografía de banco.

Cromatografía líquida de alta presión (HPLC, *high-pressure liquid chromatography*)

Las matrices de cromatografía en columna de primera generación consistían en polímeros de oligosacáridos largos entrelazados formados en cuentas esféricas de alrededor de un décimo de milímetro de diámetro. Por desgracia, su tamaño relativamente grande perturbó el flujo de la fase móvil y limitó el área superficial disponible para acomodar grupos cargados añadidos o similares al ligando. La resolución se puede aumentar reduciendo el tamaño de partícula. Sin embargo, la resistencia creada por una matriz más compacta requería el uso de presiones muy altas que aplastarían las cuentas hechas de materiales blandos y esponjosos como polisacáridos o acrilamida. De manera eventual se desarrollaron métodos para fabricar partículas de silicio del tamaño y la forma necesarios, para derivatizar su superficie con diversos grupos funcionales y empacarlas en columnas de acero inoxidable capaces de resistir presiones de varios miles de psi. Debido a su mayor poder de resolución, los sistemas de HPLC han desplazado en gran medida a las columnas de vidrio que alguna vez fueron familiares en el laboratorio de purificación de proteínas.

La cromatografía de exclusión por tamaño

La exclusión por tamaño o, como a veces todavía se hace referencia, la cromatografía de filtración en gel separa las proteínas en función de sus **radios de Stokes**. El radio de Stokes es una medida del volumen efectivo ocupado por una proteína, a medida que des-

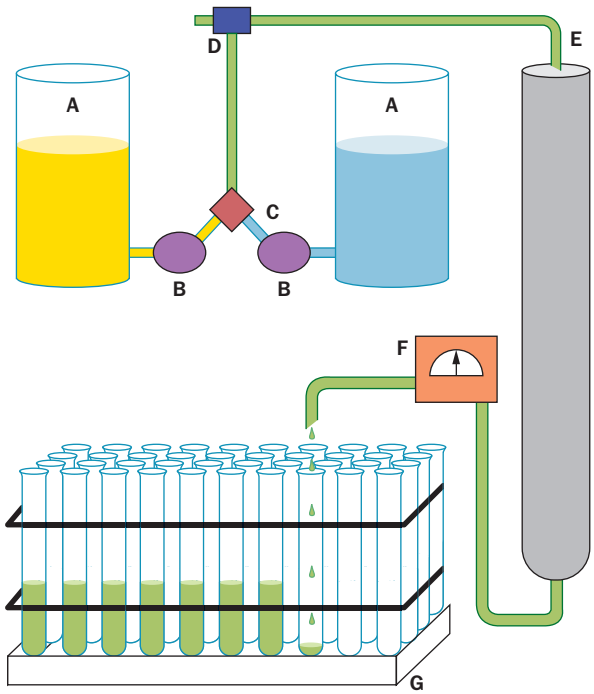


FIGURA 4-2 Componentes de un típico equipo de cromatografía líquida. Como muestra, aparecen los componentes clave de un sistema programable de cromatografía líquida que consiste en A: envase de líquidos en la fase móvil (amarillo, azul claro), B: bombas controladas por microprocesadores (púrpura), C: cámara mezcladora (rojo), D: puerto de inyección para cargar el analito (azul oscuro); E: columna de cristal, plástico o metal que contiene matriz en fase estacionaria (gris), F: indicador refractivo, fluorométrico, espectrofotométrico, o detector electroquímico (naranja) y G: colector de fracción para colectar porciones, llamadas fracciones, líquido eluyente (verde) en una serie de tubos de ensayos separados, viales o pozos en una placa microtituladora. Los microprocesadores pueden ser programados para bombear líquidos de un solo envase (elución isocrática) para cambiar los envases en algún punto predeterminado para generar un gradiente por etapa, o para mezclar líquidos desde los dos envases en proporciones que varían con el tiempo para generar tanto una multifase como un gradiente continuo.

ciende libremente en una solución. Por tanto, los radios de Stokes son una función de masa molecular y forma. Como la hélice en un avión, cuando cae, una proteína alargada ocupa un volumen efectivo mayor que una proteína globular de la misma masa. La cromatografía de exclusión por tamaño emplea perlas porosas (**figura 4-3**) cuyos poros son análogos a las hendiduras de la ribera de un río. A medida que los objetos avanzan, el movimiento de cualquier objeto que penetre en una hendidura se retarda hasta que se reincorpore a la corriente fluida. Las proteínas con radios de Stokes tan grandes que no entran en los poros (proteínas excluidas) permanecen en la fase móvil y emergen *primero* que las proteínas que penetran en los poros (proteínas incluidas). Por tanto, las proteínas emergen desde una columna de filtración en gel en el orden *descendente* de sus radios de Stokes.

Cromatografía de intercambio iónico

En la cromatografía de intercambio iónico, las proteínas interactúan con la fase estacionaria por las interacciones carga-carga. Las

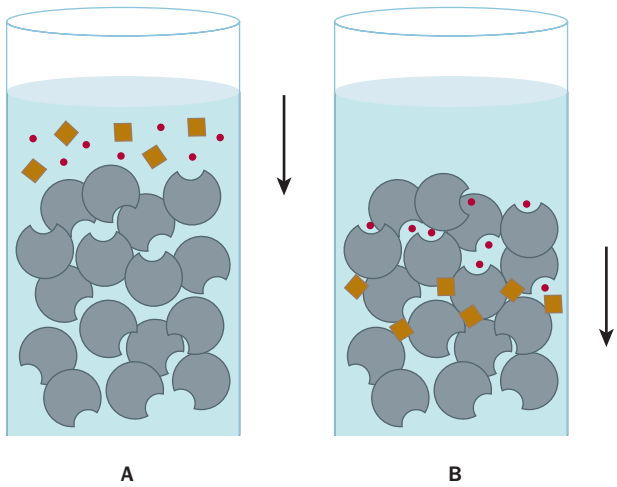


FIGURA 4-3 Cromatografía de exclusión por tamaño. A: una mezcla de moléculas grandes (carmelita) y moléculas pequeñas (rojo) es aplicada en la parte superior de una columna de filtración en gel. B: en la entrada de la columna, las pequeñas moléculas penetran los poros en la matriz de fase estacionaria (gris). Mientras que en la fase móvil (azul) corren por la columna, dejan atrás las moléculas grandes, las cuales son excluidas.

proteínas con una carga neta positiva y un pH dado se adhieren con fuerza a las partículas con grupos funcionales negativamente cargados, tales como carboxilatos o sulfatos (intercambiadores de cationes). Al igual que las proteínas con una carga neta negativa se adhieren de modo fuerte a las partículas con grupos funcionales positivamente cargados, en general aminas terciarias o cuaternarias (intercambiadores de aniones). Las proteínas sin adherencia fluyen a través de la matriz y son arrastradas. Luego, las proteínas unidas son desplazadas de manera selectiva elevando de modo gradual la fuerza iónica de la fase móvil, por tanto las interacciones carga-carga se debilitan. Las proteínas se eluyen en orden inverso a la fuerza de sus interacciones con la fase estacionaria.

Cromatografía de interacción hidrófoba

La cromatografía de interacción hidrófoba separa las proteínas basada en su tendencia de asociarse con una matriz de fase estacionaria cubiertas con grupos hidrófobos (p. ej., sefarosa fenilo, sefadex octilo). Las proteínas con superficie hidrófoba expuesta se adhieren a la matriz mediante las interacciones hidrófobas que son mejoradas por el empleo de una fase móvil de alta fuerza iónica. Posteriormente las proteínas que no se adhieren son arrastradas y la polaridad de la fase móvil decrece por la disminución gradual de la concentración de sal. Si la interacción entre la proteína y la fase estacionaria es fuerte, el etanol o el glicerol puede ser agregado a la fase móvil para disminuir su polaridad y debilitar con posterioridad las interacciones hidrófobas.

Cromatografía por afinidad

La cromatografía por afinidad explota la alta selectividad expuesta por muchas proteínas para sus ligandos. Las enzimas pueden ser purificadas por la cromatografía por afinidad usando sustratos inmovilizados, productos, coenzimas o inhibidores. En teoría, solamente se purifican las proteínas que interactúan con la adherencia de ligandos inmóviles. Las proteínas unidas luego se eluyen por

competición con ligando libre soluble o, de forma menos selectiva, por disrupción de las interacciones proteína-ligando usando urea, hidrocloruro de guanidina, pH levemente ácido o altas concentraciones de sal. Las matrices de fase estacionaria que contienen análogos de ligandos frecuentemente encontrados, tales como NAD^+ o ATP, están disponibles de modo comercial. Las proteínas expresadas recombinantemente se purifican con frecuencia mediante el uso de vectores que añaden un dominio de fusión a la proteína codificada diseñada para interactuar con una matriz de afinidad específica (véase capítulo 7).

La pureza proteica se evalúa mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE, *polyacrylamide gel electrophoresis*)

El método más ampliamente utilizado para determinar la pureza de una proteína es SDS-PAGE —la electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)— en presencia del detergente aniónico dodecilsulfato sódico (SDS, *sodium dodecyl sulfate*). La electroforesis separa las biomoléculas cargadas en función de las velocidades a las que migran en un campo eléctrico aplicado. Para SDS-PAGE, la acrilamida se polimeriza y se reticula para formar una matriz porosa. El SDS se une a las proteínas en una proporción de una molécula de SDS por dos enlaces peptídicos, lo que provoca que el polipéptido se despliegue o se desnaturalice. Cuando se usa junto con 2-mercaptoetanol o ditiotreitol para reducir y romper los enlaces disulfuro **(figura 4-4)**, la SDS-PAGE separa los componentes polipeptídicos de las proteínas multiméricas. El gran número de moléculas de SDS aniónicas, cada una con una carga de –1, supera las contribuciones de carga de los grupos endógenos de aminoácidos funcionales a un polipéptido típico. Dado que esto hace que la proporción de carga a masa de cada complejo de SDS-polipéptido sea aproximadamente igual, la resistencia física que encuentra cada

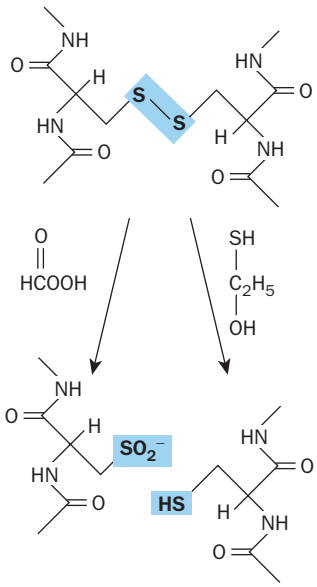


FIGURA 4-4 La escisión oxidativa de cadenas polipeptídicas adyacentes unidas por enlaces disulfuro (resaltados en azul) por ácido perfórmico (izquierda) o escisión reductiva por betamercaptoetanol (derecha) forma dos péptidos que contienen residuos de ácido cisteico o residuos cisteinilo, respectivamente.

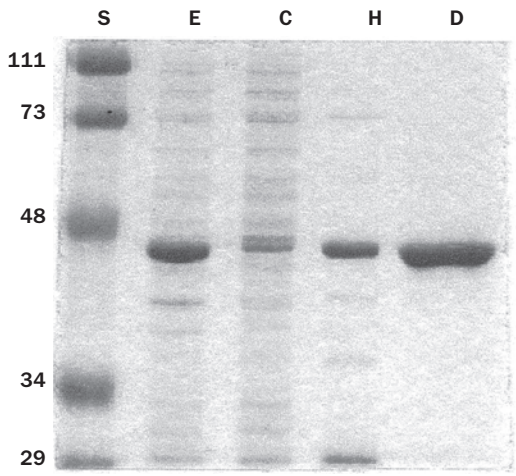


FIGURA 4-5 Uso de SDS-PAGE para observar la purificación sucesiva de una proteína recombinante. El gel se tiñó con azul de Coomassie. Se muestran patrones de proteínas (carril S) del M_r indicado, en kDa, extracto de células crudas (E), citosol (C), líquido sobrenadante de alta velocidad (H) y la fracción de DEAE-Sefarosa (D). La proteína recombinante tiene una masa de aproximadamente 45 kDa.

péptido a medida que se mueve a través de la matriz de acrilamida determina su velocidad de migración. Los complejos grandes encuentran mayor resistencia, lo que hace que los polipéptidos se separen en función de su masa molecular relativa (M_r, *relative molecular mass*). Los polipéptidos individuales atrapados en el gel de acrilamida después de la eliminación del campo eléctrico se visualizan mediante tinción con colorantes tales como azul de Coomassie **(figura 4-5).**

Enfoque isoeléctrico (IEF, *isoelectric focusing*)

Los tampones iónicos llamados anfolitos y un campo eléctrico aplicado se utilizan para generar un gradiente de pH dentro de una matriz de poliacrilamida. Las proteínas aplicadas migran hasta que alcanzan la región de la matriz donde el pH coincide con su punto isoeléctrico (pI), el pH al cual la carga neta de una molécula es 0. El IEF se usa con frecuencia junto con SDS-PAGE para electroforesis bidimensional, que separa polipéptidos basados en pI en una dimensión y en M_r en la segunda (**figura 4-6**). La electroforesis bidimensional es particularmente adecuada para separar los componentes dentro de mezclas complejas de proteínas.

SANGER FUE EL PRIMERO EN DETERMINAR LA SECUENCIA DE UN POLIPÉPTIDO

La insulina madura consiste en la cadena A de 21 residuos y la cadena B de 30 residuos unida por enlaces disulfuro. Frederick Sanger redujo los enlaces disulfuro (**figura 4-4**), separó las cadenas A y B, y dividió cada cadena en péptidos más pequeños usando tripsina, quimotripsina y pepsina. Los péptidos resultantes luego fueron aislados e hidrolizados en una mezcla de péptidos más pequeños por tratamiento con ácido. Cada péptido en la mezcla se aisló y se

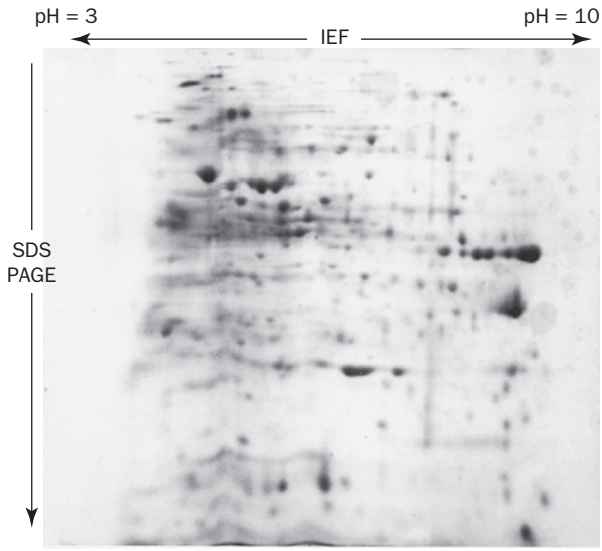


FIGURA 4-6 IEF-SDS-PAGE bidimensional. El gel se tiñó con azul de Coomassie. Un extracto bacteriano crudo se sometió primero a enfoque isoeléctrico (IEF) en un gradiente de pH 3-10. El gel de IEF se colocó entonces horizontalmente en la parte superior de un gel de SDS-PAGE, y las proteínas se resolvieron luego mediante SDS-PAGE. Observe la resolución muy mejorada de distintos polipéptidos en relación con el gel de SDS-PAGE ordinario (figura 4-5).

trató con 1-fluoro-2,4-dinitrobenceno (reactivo de Sanger), que reacciona con los grupos α-aminos expuestos de los residuos amino terminales. Luego fue determinado el contenido de aminoácidos de cada péptido e identificado el aminoácido amino terminal. El grupo ε-amino de lisina también reacciona con el reactivo Sanger; pero como una lisina amino terminal reacciona con 2 mol de reactivo Sanger, se distingue fácilmente de una lisina del interior de un péptido. Trabajando desde di y tripéptidos hasta fragmentos progresivamente más grandes, Sanger pudo reconstruir la secuencia completa de insulina, un logro por el cual recibió el Premio Nobel en 1958. Sanger, quien recibió su segundo Premio Nobel por su desarrollo de técnicas para la secuenciación de DNA, murió en 2013 a la edad de 95 años.

LA REACCIÓN DE EDMAN PERMITE DETERMINAR LA SECUENCIA DE PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

Pehr Edman introdujo isotiocianato de fenilo (reactivo de Edman) para marcar selectivamente el residuo amino terminal de un péptido. A diferencia del reactivo Sanger, el derivado de feniltiohidantoína (PTH, *phenylthiohydantoin*) puede eliminarse en condiciones moderadas para generar un nuevo residuo amino terminal **(figura 4-7).** Las sucesivas rondas de derivatización con reactivo de Edman pueden, por tanto, usarse para secuenciar muchos residuos de una sola muestra de péptido. Incluso con el beneficio del reactivo Edman, la determinación de la secuencia completa de una proteína por métodos químicos sigue siendo un proceso que exige mucho tiempo y mano de obra.

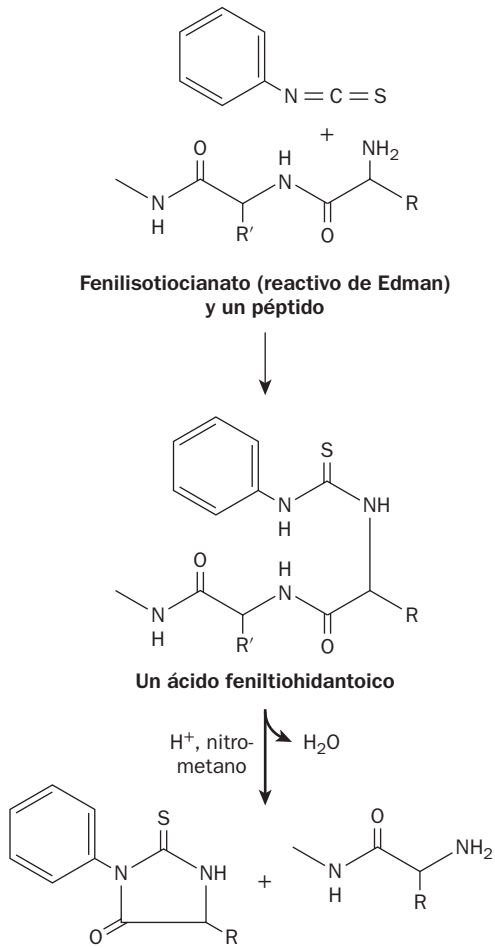


FIGURA 4-7 La reacción de Edman. El isotiocianato de fenilo derivatiza el residuo amino terminal de un péptido como un ácido feniltiohidantoico. El tratamiento con ácido en un disolvente no hidroxílico libera una feniltiohidantoína, que posteriormente se identifica por su movilidad cromatográfica, y un péptido con un residuo más pequeño. Luego el proceso se repite.

Las propiedades químicas heterogéneas de los aminoácidos significaron que cada paso en el procedimiento representaba un compromiso entre la eficiencia para cualquier aminoácido o conjunto de aminoácidos en particular y la flexibilidad necesaria para acomodar a todos los 20. Por consiguiente, cada paso en el proceso opera a menos de 100% de eficiencia, que conduce a la acumulación de fragmentos de polipéptidos con diferentes *N*-terminales. Eventualmente, se hace imposible distinguir el aminoácido PTH correcto para esa posición en el péptido de los contaminantes fuera de fase. Como resultado, la longitud de lectura para la secuenciación de Edman varía de 5 a 30 residuos de aminoácidos dependiendo de la cantidad y pureza del péptido.

Para determinar la secuencia completa de un polipéptido de varios cientos de residuos de longitud, primero se debe escindir una proteína en péptidos más pequeños, usando una proteasa o un reactivo como bromuro de cianógeno. Después de la purificación por HPLC de fase inversa, estos péptidos son analizados por la secuenciación de Edman. Con el objetivo de ensamblar estas secuen-

cias peptídicas cortas para resolver la secuencia completa del polipéptido intacto, es necesario analizar los péptidos cuyas secuencias se superponen entre sí. Esto se logra generando múltiples conjuntos de péptidos utilizando más de un método de escisión. Las grandes cantidades de proteína purificada requeridas para probar la fragmentación de proteínas múltiples y las condiciones de purificación de péptidos constituyen el segundo gran inconveniente de las técnicas químicas directas de secuenciación de proteínas.

LA BIOLOGÍA MOLECULAR REVOLUCIONÓ LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA

Mientras que las reacciones que derivan secuencialmente y segmentan los aminoácidos PTH del extremo amino terminal de un péptido típicamente son conducidas en un secuenciador automático, la secuenciación del DNA es mucho más rápida y económica. Las técnicas recombinantes permiten a los investigadores fabricar un suministro prácticamente infinito de DNA a partir de cantidades mínimas de molde presentes en la muestra original (véase capítulo 39). Los métodos de secuenciación del DNA, cuya química subyacente también fue desarrollada por Sanger, logran de manera rutinaria secuenciadores automáticos para "leer" secuencias de varios miles de desoxirribonucleótidos de longitud. La secuencia del polipéptido codificado se determina de modo simple traduciendo la secuencia de tripletes de nucleótidos codificados por su gen. Por el contrario, los primeros biólogos moleculares diseñaron sondas oligonucleotídicas complementarias para identificar el clon de DNA que contiene el gen de interés al invertir este proceso y utilizar un segmento de secuencia de aminoácidos determinada químicamente como molde. El advenimiento de la clonación del DNA marcó el comienzo del uso generalizado de un enfoque híbrido en el que se empleó la química de Edman para secuenciar una pequeña porción de la proteína y luego explotar esta información para determinar la secuencia restante mediante clonación de DNA y secuenciación de polidesoxirribonucleótidos.

LA GENÓMICA PERMITE QUE LAS PROTEÍNAS SE IDENTIFIQUEN A PARTIR DE PEQUEÑAS CANTIDADES DE DATOS DE SECUENCIA

Hoy en día, la cantidad de organismos para los que la secuencia completa de DNA de sus genomas ha sido determinada y se encuentra disponible, a los números de la comunidad científica, es de miles. Por tanto, para la mayoría de los científicos investigadores, en particular aquellos que trabajan en "organismos modelos" comúnmente utilizados como *Homo sapiens*, ratón, rata, *Escherichia coli*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, levadura, etc., la secuencia genéticamente codificada de la(s) proteína(s) con las que están trabajando ya ha sido determinada y está a la espera de ser incluida en una base de datos como GenBank. Todo lo que un científico necesita para hacer una identificación inequívoca es la secuencia de aminoácidos para algún segmento, a veces tan sólo como cinco o seis residuos consecutivos, de la proteína de interés. Mientras que la información de la secuencia de aminoácidos una vez se obtuvo usando la técnica de Edman, hoy en día la espectrometría de masas (MS, *mass spectrometry*) se ha convertido en el método de elección para la identificación de proteínas.

CUADRO 4-1 Aumentos masivos resultantes de las modificaciones postraduccionales comunes

Modificación	Aumento de la masa de (Da)
Fosforilación	80
Hidroxilación	16
Metilación	14
Acetilación	42
Miristilación	210
Palmitoilación	238
Glucosilación	162

LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS PUEDE DETECTAR MODIFICACIONES COVALENTES

La sensibilidad, velocidad y versatilidad superiores de la MS han reemplazado a la técnica de Edman como el método principal para determinar las secuencias de péptidos y proteínas. La MS es significativamente más sensible y tolerante a las variaciones en la calidad de la muestra. Además, dado que la masa y la carga son propiedades comunes de una amplia gama de biomoléculas, la MS puede usarse para analizar metabolitos, carbohidratos y lípidos y detectar modificaciones postraduccionales como la fosforilación o la hidroxilación que agregan incrementos de masa fácilmente identificables a una proteína (**cuadro 4-1**). Estas modificaciones son difíciles de detectar usando la técnica de Edman y son indetectables en la secuencia de aminoácidos derivada de DNA.

LOS ESPECTRÓMETROS DE MASA SE PRESENTAN EN DIFERENTES CONFIGURACIONES

En un espectrómetro de masas cuadrupolo simple, se coloca una muestra al vacío y se deja evaporar en presencia de una fuente de protones para suministrar una carga positiva. Un campo eléctrico luego impulsa los cationes hacia un tubo de vuelo curvo donde se encuentran con un campo magnético, que los desvía en ángulo recto a su dirección original (**figura 4-8**). La corriente que alimenta el electroimán que genera este campo se incrementa de manera gradual hasta que la trayectoria de cada ion se doble lo suficiente como para golpear un detector montado en el extremo del tubo de vuelo. **Para iones de carga neta idéntica, la fuerza requerida para doblar su trayectoria en la misma medida es proporcional a su masa.**

Los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo (TOF) emplean un tubo de vuelo lineal. Después de la vaporización de la muestra en presencia de una fuente de protones, se aplica brevemente un campo eléctrico para acelerar los iones hacia un detector

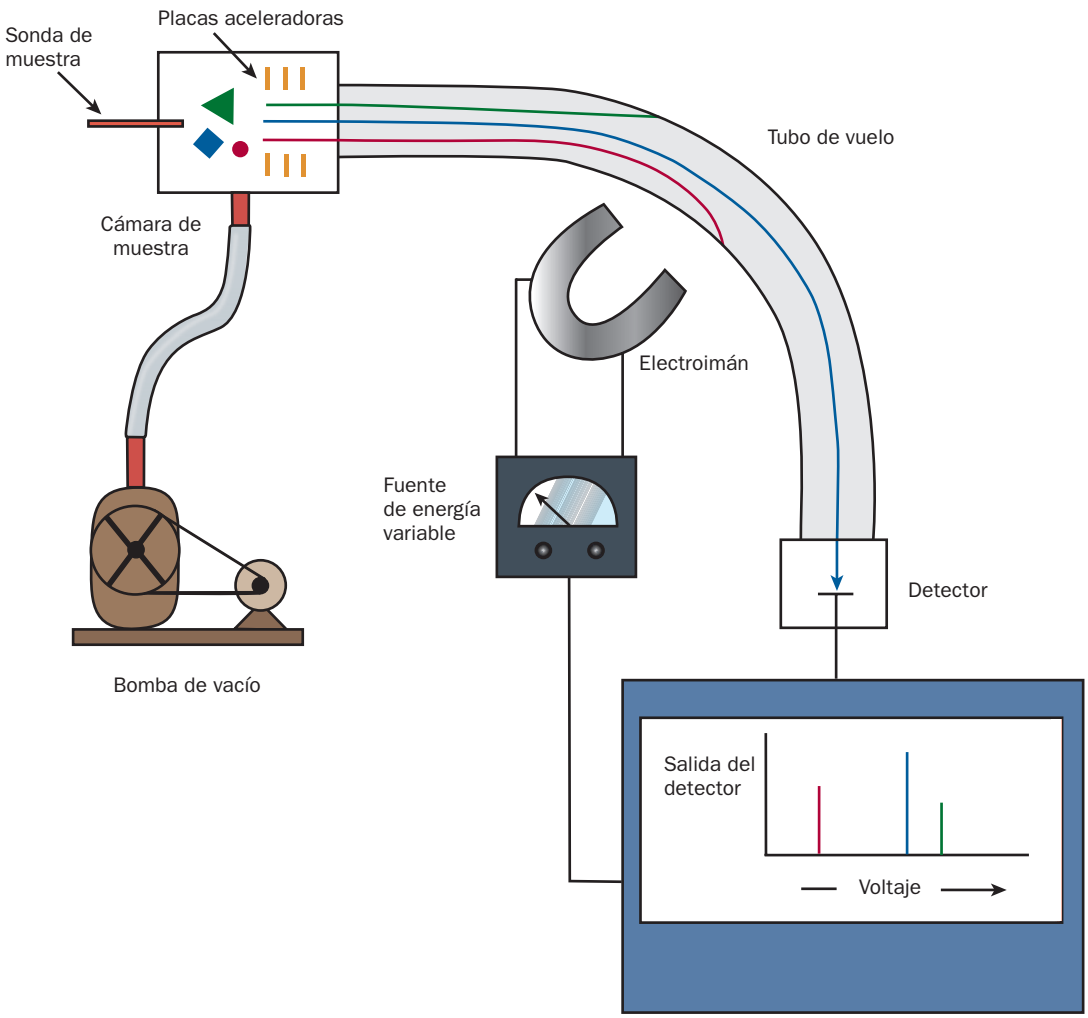


FIGURA 4-8 Componentes básicos de un espectrómetro de masas simple. Una mezcla de moléculas, representada por un círculo rojo, un triángulo verde y un diamante azul, se vaporiza en un estado ionizado en la cámara de muestra. Estas moléculas se aceleran por el tubo de vuelo mediante un potencial eléctrico aplicado a la rejilla del acelerador (amarillo). Un electroimán de intensidad de campo ajustable aplica un campo magnético que desvía el vuelo de los iones individuales hasta que golpean el detector. Mientras mayor sea la masa del ion, mayor será el campo magnético requerido para enfocarlo en el detector.

al final del tubo de vuelo. **Para moléculas de carga idéntica, la velocidad a la que se aceleran, y por tanto, el tiempo requerido para alcanzar el detector, es inversamente proporcional a su masa.**

Los espectrómetros de masas cuadrupolos se usan por lo general para determinar las masas de moléculas de 4 000 Da o menos, mientras que los espectrómetros de masas TOF se usan para determinar las grandes masas de proteínas completas. Varias combinaciones de cuadrupolos múltiples, o reflexión de iones hacia atrás en el tubo de vuelo lineal de un espectrómetro de masas TOF, se utilizan para crear instrumentos más sofisticados.

Los péptidos pueden volatilizarse para el análisis mediante ionización por electroespray o desorción láser asistida por la matriz

El análisis de péptidos y proteínas por parte de la MS inicialmente se vio obstaculizado por las dificultades para volatilizar estas grandes moléculas orgánicas. Mientras que las pequeñas moléculas orgánicas podrían vaporizarse fácilmente por calentamiento en una aspiradora (**figura 4-9**), las proteínas, oligonucleótidos, etc., se descomponen al calentarse. Sólo cuando se idearon técnicas confiables para dispersar péptidos, proteínas y otras biomoléculas grandes en la fase de vapor, fue posible aplicar MS para su análisis estructural y determinación de la secuencia. Tres métodos comúnmente utilizados para la dispersión en la fase de vapor son **ionización por electroespray, desorción y ionización láser asistida por matriz (MALDI, *matrix-assisted laser desorption and ionization*) y bombardeo rápido de átomos (FAB, *fast atom bombardment*).** En la ionización por electroespray, las moléculas para analizar se disuelven en un disolvente volátil y se introducen en la cámara de muestra en un flujo pequeño a través de un capilar (figura 4-9). A medida que la gota de líquido emerge en la cámara de muestra, el solvente se dispersa rápidamente, dejando la macromolécula suspendida en la fase gaseosa. La sonda cargada sirve para ionizar la muestra. La ionización por electroespray se usa con frecuencia para analizar péptidos y proteínas a medida que eluyen de una

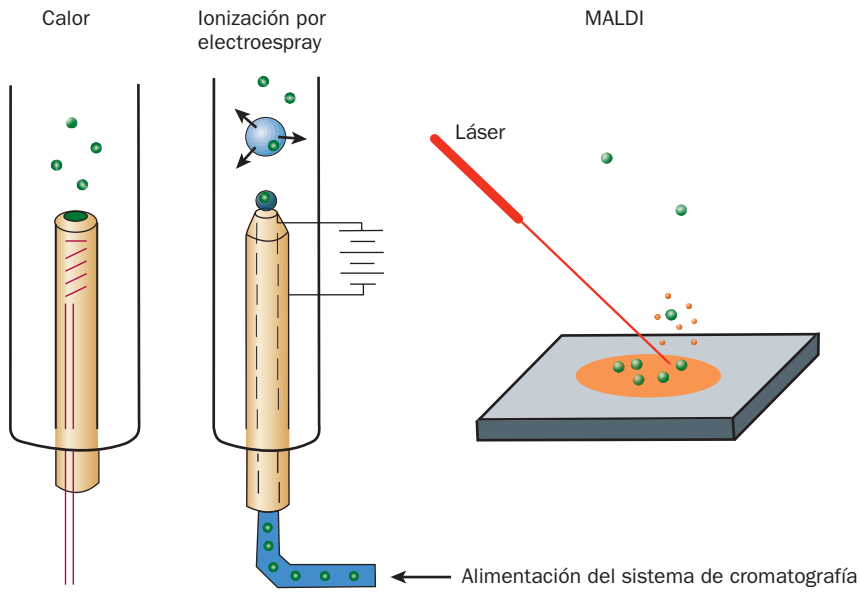


FIGURA 4-9 **Tres métodos comunes para vaporizar moléculas en la cámara de muestra de un espectrómetro de masas.**

columna de HPLC u otra columna de cromatografía, ya disuelta en un disolvente volátil. En MALDI, la muestra se mezcla con una matriz líquida que contiene un tinte que absorbe la luz y una fuente de protones. En la cámara de muestra, la mezcla se excita utilizando un láser, lo que hace que la matriz circundante se disperse en la fase de vapor tan rápidamente como para evitar el calentamiento de péptidos o proteínas incrustados (figura 4-9). En el bombardeo rápido de átomos, las grandes macromoléculas dispersas en glicerol u otra matriz protónica son bombardeadas por una corriente de átomos neutros, por ejemplo, xenón, que se han acelerado a una alta velocidad. La ionización "suave" por FAB se aplica con frecuencia para volatilizar grandes macromoléculas intactas.

Los péptidos dentro del espectrómetro de masas se pueden descomponer en unidades más pequeñas mediante colisiones con helio neutro o átomos de argón (disociación inducida por colisión) y se determinan las masas de los fragmentos individuales. Dado que los enlaces peptídicos son mucho más lábiles que los enlaces carbono-carbono, los fragmentos más abundantes se diferenciarán entre sí por incrementos de uno o dos aminoácidos. Dado que, con la excepción de 1) leucina e isoleucina y 2) glutamina y lisina, la masa molecular de cada aminoácido es única, la secuencia del péptido se puede reconstruir a partir de las masas de sus fragmentos.

Espectrometría de masas en tándem

Las mezclas de péptidos complejos se pueden analizar, sin purificación previa, mediante MS en tándem, que emplea el equivalente de dos espectrómetros de masas unidos en serie. Por esta razón, el análisis por instrumentos en tándem a menudo se denomina **MS-MS** o **MS^2**. El primer espectrómetro de masas separa los péptidos individuales en función de sus diferencias en masa. Al ajustar la intensidad de campo del primer imán se puede dirigir un único péptido al segundo espectrómetro de masas, donde se generan fragmentos y se determinan sus masas. Alternativamente, pueden mantenerse en una **trampa de iones** electromagnéticos localizada entre los dos cuadrupolos y administrarse de modo selectivo al segundo cuadrupolo en lugar de perderse cuando el primer cuadrupolo se establece para seleccionar iones de una masa diferente.

El MS en tándem se puede utilizar para detectar muestras de sangre de recién nacidos en busca de la presencia y concentración de aminoácidos, ácidos grasos y otros metabolitos. Las anormalidades en los niveles de metabolitos pueden servir como indicadores diagnósticos para una variedad de trastornos genéticos, como la fenilcetonuria, la encefalopatía etilmalónica y la acidemia glutárica tipo 1.

LA PROTEÓMICA Y EL PROTEOMA

El objetivo de la proteómica es identificar el complemento completo de las proteínas elaboradas por una célula en diversas condiciones

Aunque se conoce la secuencia del genoma humano, la imagen proporcionada por la genómica es estática e incompleta. A medida que los genes se encienden y apagan, las proteínas se sintetizan en tipos de células particulares en momentos específicos de crecimiento o diferenciación y en respuesta a estímulos externos. Las células musculares expresan proteínas no expresadas por las células neuronales, y el tipo de subunidades presentes en el tetrámero de hemoglobina experimentan cambios antes y después del parto. Muchas proteínas sufren modificaciones postraduccionales durante la maduración en formas funcionalmente competentes o como un medio para regular sus propiedades. Con el fin de obtener una descripción molecular más completa y dinámica de los organismos vivos, los científicos están trabajando para determinar el **proteoma**, un término que se refiere a la identidad, abundancia y estado de modificación de todo el conjunto de proteínas expresado por una célula individual en un momento particular. Dado que el proteoma de cada

célula componente de un organismo es distinto y cambia con el tiempo y las circunstancias, el último proteoma humano completo constituye un objetivo de tamaño y complejidad formidables.

La determinación simultánea de cientos de proteínas es técnicamente desafiante

Un objetivo clave de la proteómica es la identificación de proteínas cuyos niveles de expresión o modificación se correlacionan con eventos médicamente significativos. Además de su potencial como indicadores de diagnóstico, estos biomarcadores de proteínas pueden proporcionar pistas importantes sobre las causas y los mecanismos de una condición o enfermedad fisiológica específica. La proteómica de primera generación empleó SDS-PAGE o electroforesis bidimensional para analizar las proteínas en una muestra biológica de otra, seguido de la determinación de la secuencia de aminoácidos de su extremo amino por el método de Edman. Las identidades se determinaron buscando las secuencias polipeptídicas disponibles para proteínas que contenían una secuencia *N*-terminal correspondiente y se predijo que poseían un M_r similar y, para geles 2D, pI.

Estos primeros esfuerzos se vieron restringidos por el número limitado de secuencias polipeptídicas disponibles y las dificultades para aislar polipéptidos de los geles en cantidades suficientes para el análisis de Edman. Los intentos de aumentar el poder de resolución y el rendimiento de la muestra al aumentar el tamaño de los geles sólo fueron marginalmente exitosos. De manera eventual, el desarrollo de técnicas de espectrometría de masas proporcionó un medio para la determinación de la secuencia de proteínas cuya sensibilidad era compatible con los enfoques de separación electroforética.

El conocimiento de la secuencia del genoma del organismo en cuestión facilitó en gran medida la identificación proporcionando un conjunto completo de secuencias polipeptídicas codificadas por DNA. También proporcionó los datos de la secuencia de nucleótidos para construir **conjuntos de genes, a veces denominadas chips de DNA**, que contienen cientos de distintas sondas de oligonucleótidos. Estos chips podrían usarse para detectar la presencia de mRNA que contienen secuencias de nucleótidos complementarias. Aunque los cambios en la expresión del mRNA que codifica una proteína no reflejan necesariamente cambios comparables en el nivel de la proteína correspondiente, los conjuntos de genes fueron menos exigentes técnicamente y más sensibles que los enfoques proteómicos de primera generación, en particular con respecto a proteínas de baja abundancia.

La proteómica de segunda generación acopla las técnicas cromatográficas recientemente desarrolladas con MS a la nanoescala. Las proteínas en una muestra biológica se tratan primero con una proteasa para hidrolizarlas en péptidos más pequeños que luego se someten a una cromatografía de fase inversa, de intercambio iónico o de exclusión por tamaño para distribuir la gran cantidad de péptidos en pequeños subconjuntos más susceptibles para el análisis. Estos subconjuntos se analizan inyectando el eluyente de la columna directamente en un cuadrupolo doble o un espectrómetro de masas TOF. La **tecnología de identificación de proteínas multidimensional** (**MudPIT**, *multidimensional protein identification technology*) emplea sucesivas rondas de cromatografía para determinar los péptidos producidos a partir de la digestión de una muestra biológica compleja en varias fracciones más simples que pueden analizarse por separado por MS.

Hoy en día, la suspensión de mezclas de péptidos complejos dentro del espectrómetro de masas en sí y la posterior exportación de subconjuntos pequeños para el análisis final, utilizando trampas de iones, a menudo permite que mezclas incluso complejas sean analizadas directamente por MS sin un fraccionamiento cromatográfico previo. Los esfuerzos también continúan refinando los métodos para el análisis de la expresión de mRNA y proteína en células individuales.

La bioinformática ayuda a la identificación de las funciones de proteínas

Las funciones de una gran proporción de las proteínas codificadas por el genoma humano son desconocidas en la actualidad. Los esfuerzos continúan desarrollando conjuntos de proteínas o chips para probar directamente las funciones potenciales de las proteínas en una escala masiva. Sin embargo, aunque algunas funciones de proteínas son relativamente fáciles de analizar, como la actividad de proteasa o esterasa, otras son mucho menos tratables. La extracción de datos a través de la bioinformática permite a los investigadores comparar las secuencias de aminoácidos de proteínas desconocidas con aquellas cuyas funciones que se han determinado. Esto proporciona un medio para descubrir pistas sobre sus propiedades potenciales, funciones fisiológicas y mecanismos de acción. Los algoritmos explotan la tendencia de la naturaleza a emplear variaciones de un tema estructural para realizar funciones similares en varias proteínas [p. ej., el pliegue de unión al nucleótido de Rossmann para unirse a NAD(P)H, secuencias de dirección nuclear y manos de EF para unirse a Ca^{2+}]. Estos dominios por lo general se detectan en la estructura primaria mediante la conservación de aminoácidos particulares en posiciones clave. Por tanto, se puede inferir una comprensión de las propiedades y el papel fisiológico de una proteína recién descubierta comparando su estructura primaria con la de las proteínas conocidas.

RESUMEN

- Los polímeros o polipéptidos de aminoácidos largos constituyen la unidad estructural básica de las proteínas, y la estructura de una proteína proporciona una idea de cómo cumple sus funciones.
- Las proteínas sufren alteraciones postraduccionales durante su vida que influyen en su función y determinan su destino.
- Al generar un nuevo terminal amino, el reactivo Edman permitió la determinación de segmentos largos de la secuencia de aminoácidos.
- Los geles de poliacrilamida proporcionan una matriz porosa para separar proteínas en función de su movilidad en un campo eléctrico aplicado de corriente continua.
- Es casi constante la proporción a la cual el detergente aniónico SDS se une a proteínas que permiten a SDS-PAGE separar polipéptidos predominantemente sobre la base del tamaño relativo.
- Debido a que la masa es una propiedad universal de todas las biomoléculas y sus derivados, la MS se ha convertido en una técnica versátil aplicable a la determinación de la estructura primaria, la identificación de modificaciones postraduccionales y la detección de anomalías metabólicas.
- La clonación de DNA junto con la química de proteínas proporcionó un enfoque híbrido que aumentó en gran medida la velocidad y la eficacia para la determinación de estructuras primarias de proteínas.

- La genómica, la determinación de secuencias completas de polinucleótidos, proporciona a los investigadores un modelo para cada macromolécula genéticamente codificada en un organismo.
- El análisis proteómico utiliza datos genómicos para identificar el complemento completo de proteínas en una muestra biológica a partir de datos de secuencias de aminoácidos parciales obtenidos mediante el acoplamiento de proteínas y métodos de separación de péptidos con la secuenciación por MS.
- Un objetivo principal de la proteómica es la identificación de proteínas y sus modificaciones postraduccionales cuya aparición o desaparición se correlaciona con fenómenos fisiológicos, envejecimiento o enfermedades específicas.
- La bioinformática se refiere al desarrollo de algoritmos informáticos diseñados para inferir las propiedades funcionales de las macromoléculas mediante la comparación de secuencias de proteínas nuevas con otras cuyas propiedades se conocen.

REFERENCIAS

Biemann K. Laying the groundwork for proteomics: Mass spectrometry from 1958 to 1988. *J Proteomics* 2014;107:62.

Deutscher MP (ed.). *Guide to Protein Purification*. *Methods Enzymol*. Vol. 182. Academic Press; 1990 (Entire volume).

Duarte TT, Spencer CT. Personalized proteomics: The future of precision medicine. *Proteomes* 2016;4:29.

Ghafourian S, Sekawi Z, Raftari M, *et al*. Application of proteomics in lab diagnosis. *Clin Lab* 2013;59:465.

Schena M, Shalon D, Davis RW, *et al*. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995;270:467.

Scopes RK. *Protein Purification. Principles and Practice*. 3rd ed. Springer; 1994.

Sun H, Chen GY, Yao SQ. Recent advances in microarray technologies for proteomics. *Chem Biol* 2013;20:685.

Van Riper SK, de Jong EP, Carlis JV, *et al*. Mass spectrometry-based proteomics: Basic principles and emerging technologies and directions. *Adv Exp Med Biol* 2013;990:1.

Wood DW. New trends and affinity tag designs for recombinant protein purification. *Curr Opin Struct Biol* 2014;26:54.

Zhu H, Qian J. Applications of functional protein microarrays in basic and clinical research. *Adv Genet* 2012;79:123.

CAPÍTULO 5

Proteínas: estructuras de categoría superior

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Indicar las ventajas y desventajas de varios enfoques para clasificar las proteínas.
- Explicar e ilustrar las estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas.
- Identificar los principales tipos de estructura secundaria y explicar los motivos supersecundarios.
- Describir el tipo de intensidad relativa de las fuerzas que estabilizan cada orden de las estructuras de las proteínas.
- Describir la información resumida por un gráfico de Ramachandran.
- Resumir los principios operativos básicos que subyacen en tres métodos clave para determinar la estructura de las proteínas: cristalografía de rayos X, espectroscopia de resonancia magnética nuclear y criomicroscopia electrónica.
- Indicar el estado actual del conocimiento sobre el proceso gradual mediante el cual se considera que las proteínas alcanzan su conformación nativa.
- Identificar la función fisiológica en la maduración de proteínas chaperonas, proteína disulfuro isomerasa, e isomerasa *cis-trans* de la peptidilprolina.
- Describir las principales técnicas biofísicas empleadas en el estudio de las estructuras terciaria y cuaternaria de las proteínas.
- Explicar cómo los trastornos genéticos y nutricionales de la maduración de los colágenos ilustra el estrecho vínculo entre la estructura de la proteína y la función.
- Para las enfermedades previas, describir los eventos generales en su patología molecular y nombrar las formas de vida que afecta.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En la naturaleza, la forma sigue la función. Para que un polipéptido recién sintetizado madure en una proteína biológicamente funcional capaz de catalizar una reacción metabólica, potenciar un movimiento celular, o formar armazones macromoleculares que brindan integridad estructural a los vellos, huesos, tendones y dientes, debe plegarse en una disposición tridimensional específica, o **conformación**. Además, durante la maduración, las **modificaciones postraduccionales** pueden agregar nuevos grupos químicos o quitar segmentos de péptidos necesitados de manera transitoria. Las deficiencias nutricionales o genéticas que impiden la maduración de la proteína son perjudiciales para la salud. Ejemplo de las primeras incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, prurigo lumbar, enfermedad de Alzheimer, encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de la vaca loca). Las últimas incluyen el escorbuto (ácido ascórbico) y el síndrome de Menkes (Cu). Por el contrario, la terapéutica de próxima generación para enfermedades virales como la hepatitis C bloquea la maduración de proteínas viralmente codificadas por inhibición de la actividad de las ciclofilinas, una familia de isomerasas *cis-trans* de la proteína peptidil.

CONFORMACIÓN *VERSUS* CONFIGURACIÓN

Los términos configuración y conformación son confundidos con frecuencia. La **configuración** se refiere a la relación geométrica entre un grupo de átomos dado, por ejemplo, aquellos que distinguen los L-aminoácidos de los D-aminoácidos. La interconversión de las alternativas de *configuraciones* requiere romper (y reformar) enlaces covalentes. La **conformación** se refiere a la relación espacial de cada átomo en una molécula. La interconversión entre *confórmeros* ocurre con la retención de la configuración, por lo general a través de la rotación sobre enlaces simples.

LAS PROTEÍNAS FUERON INICIALMENTE CLASIFICADAS POR SUS MACROCARACTERÍSTICAS

Los científicos al inicio abordaron la elucidación de la relación entre estructura y función en las proteínas separándolas en clases basadas en propiedades tales como la solubilidad, la forma o la presencia de grupos no proteicos. Por ejemplo, las proteínas que se pueden extraer de las células usando soluciones acuosas de pH fisiológico y fuerza iónica se clasifican como **solubles**. La extracción de **proteínas integrales de membrana** requiere la disolución de la membrana con detergentes. Las **proteínas globulares** son moléculas compactas, aproximadamente esféricas que tienen **proporciones axiales** (proporción entre sus dimensiones más cortas y las más largas) de no más de tres. La mayoría de las enzimas son proteínas globulares. Por el contrario, muchas proteínas estructurales adoptan conformaciones muy extendidas. Estas **proteínas fibrosas** pueden poseer proporciones axiales de 10 o más.

Las **lipoproteínas** y **glucoproteínas** contienen lípidos y carbohidratos unidos de forma covalente, respectivamente. La mioglobina, la hemoglobina, los citocromos y muchas otras **metaloproteínas** contienen iones metálicos estrechamente asociados. Aunque han surgido esquemas de clasificación más precisos basados en la similitud u **homología**, en la secuencia de aminoácidos y la estructura tridimensional, muchos términos de la clasificación temprana siguen en uso.

LAS PROTEÍNAS SE CONSTRUYEN USANDO PRINCIPIOS MODULARES

Las proteínas realizan funciones físicas y catalíticas complejas mediante el posicionamiento de grupos químicos específicos en una disposición tridimensional precisa. El andamiaje polipeptídico que contiene estos grupos debe adoptar una conformación que sea eficiente en lo funcional y físicamente fuerte. A primera vista, la biosíntesis de polipéptidos compuestos por decenas de miles de átomos individuales parece ser extremadamente desafiante. Cuando se considera que un polipéptido típico puede adoptar $\geq 10^{50}$ conformaciones distintas, plegarse a la conformación adecuada a su función biológica parecería ser aún más difícil. Como se describe en los capítulos 3 y 4, la síntesis de las cadenas principales de polipéptidos de proteínas emplea un pequeño conjunto de bloques de construcción o módulos comunes, los aminoácidos, unidos por un enlace común, el enlace peptídico. De forma similar, una vía modular de paso moderado simplifica el plegamiento y el procesamiento de polipéptidos recién sintetizados en proteínas maduras.

CUATRO CATEGORÍAS DE LA ESTRUCTURA PROTEICA

La naturaleza modular de la síntesis y el plegamiento de proteínas se materializa en el concepto de categorías de la estructura de las proteínas: **estructura primaria**: la secuencia de aminoácidos en una cadena de polipéptido; **estructura secundaria**: plegamiento de segmentos cortos (3-30 residuos) contiguos de polipéptido en unidades geométricamente ordenadas; **estructura terciaria**: el ensamblaje de unidades estructurales secundarias en unidades funcionales mayores, tales como el polipéptido maduro y sus dominios componentes, y **estructura cuaternaria**: el número y tipos de unidades polipeptídicas de proteínas oligoméricas y su disposición espacial.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

Los enlaces peptídicos restringen posibles conformaciones secundarias

La rotación libre es posible sólo sobre dos de los tres tipos de enlaces covalentes que comprenden la cadena principal del polipéptido: el enlace que une el α-carbono (Cα) al carbono del carbonilo (Co) y el enlace que une Cα a nitrógeno (véase figura 3-8). El carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico que une el Co al nitrógeno-α requiere que el carbono carbonilo, el oxígeno del carbonilo y el nitrógeno-α permanezcan coplanares, y se evite así la rotación. El ángulo sobre el enlace Cα—N se denomina ángulo phi (ϕ), y sobre el enlace Co—Cα es el ángulo psi (ψ). En los péptidos, para los aminoácidos distintos de la glicina, la mayoría de las combinaciones de ángulos phi y psi no se permiten debido a impedimentos estéricos (véase **figura 5-1**). Las conformaciones de prolina son incluso más restringidas ya que su estructura cíclica evita la rotación libre del enlace N—Cα.

Las regiones de estructura secundaria ordenada surgen cuando una serie de residuos de aminoacilo adoptan ángulos phi y psi similares. Los segmentos extendidos de polipéptido (p. ej., bucles) pueden poseer una variedad de tales ángulos. Los ángulos que definen los dos tipos más comunes de estructura secundaria, la **hélice α** y la **lámina β**, caen dentro de los cuadrantes de la izquierda inferior y superior de un diagrama de Ramachandran, respectivamente (véase figura 5-1).

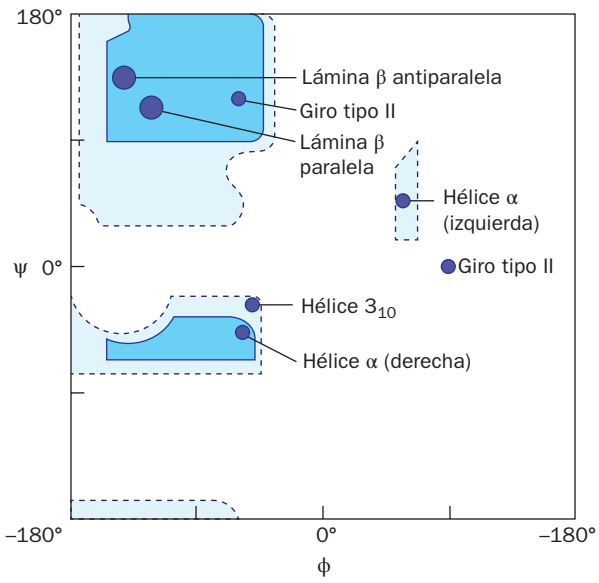


FIGURA 5-1 Gráfico de Ramachandran. Las regiones azules indican combinaciones estéricamente permisibles de ángulos phi-psi para aminoácidos no glicina y no prolina en una cadena polipeptídica. Cuanto más profundo es el azul, más termodinámica es la combinación de phi-psi. Los ángulos phi-psi correspondientes a tipos específicos de estructuras secundarias están etiquetados.

Hélice alfa

La cadena principal polipeptídica de una hélice α se retuerce en una cantidad igual alrededor de cada carbono α con un ángulo phi de aproximadamente –57° y un ángulo psi de aproximadamente –47°. Un giro completo de la hélice contiene un promedio de 3.6 residuos de aminoacilo, y la distancia que asciende por giro (su *grado de inclinación)* es de 0.54 nm (consúltese **figura 5-2**). Los grupos R de cada residuo de aminoacilo en una hélice α miran hacia afuera (véase **figura 5-3**). Las proteínas contienen sólo L-aminoácidos, para los cuales una hélice α derecha es, con mucho, la más estable, y sólo hélices α derechas están presentes en las proteínas. Los diagramas esquemáticos de proteínas representan las hélices α como bobinas o cilindros.

La estabilidad de una hélice α surge principalmente de enlaces de hidrógeno formados entre el oxígeno del carbonilo del enlace peptídico y el átomo de hidrógeno del nitrógeno del enlace peptídico del cuarto residuo de la cadena de polipéptido (consúltese **figura 5-4**). La capacidad de formar el número máximo de enlaces de hidrógeno, complementada por las interacciones de Van der Waals en el núcleo de esta estructura compactada, proporciona la fuerza de conducción termodinámica para la formación de una hélice α. Dado que el nitrógeno del enlace peptídico de la prolina carece de un átomo de hidrógeno, es incapaz de formar un enlace de hidrógeno con un oxígeno de carbonilo. En consecuencia, la prolina sólo puede ser acomodada de manera estable dentro de la primera vuelta de una hélice α. Cuando está presente en otra parte, la prolina altera la conformación de la hélice, y produce una torsión. Debido a que posee un grupo R tan pequeño, la glicina también induce con frecuencia torsiones dentro de las hélices α.

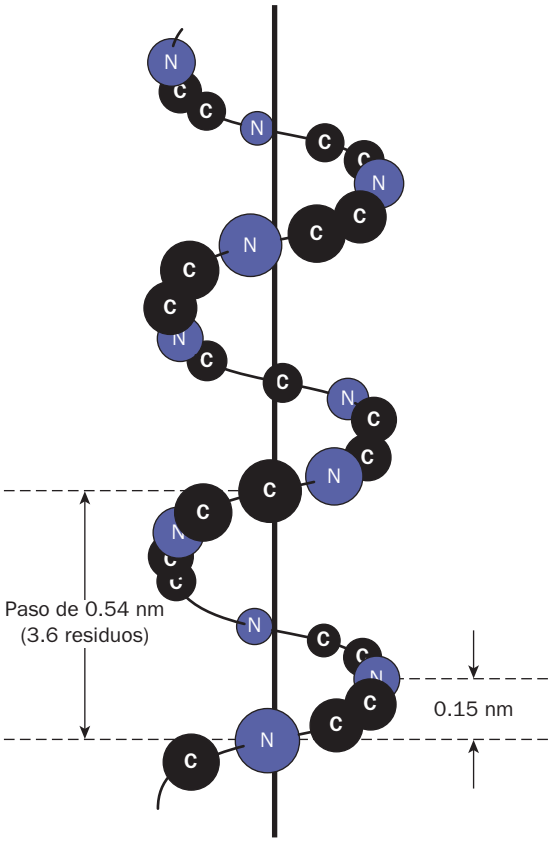


FIGURA 5-2 **Orientación de los átomos de la cadena principal de un péptido sobre el eje de una hélice α.**

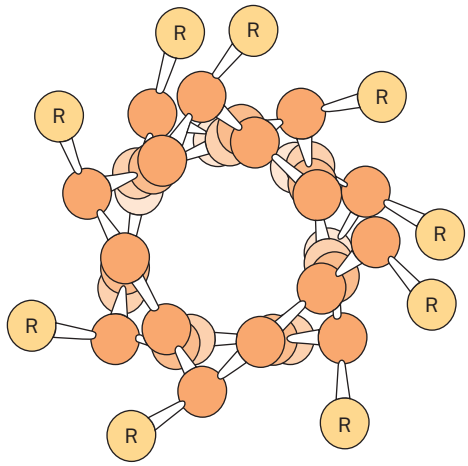


FIGURA 5-3 **Véase el eje de un polipéptido hélice α.** Las cadenas laterales (R) están en el exterior de la hélice. Los radios de Van der Waals de los átomos son más grandes que lo que aquí se muestra; por tanto, casi no hay espacio libre dentro de la hélice.

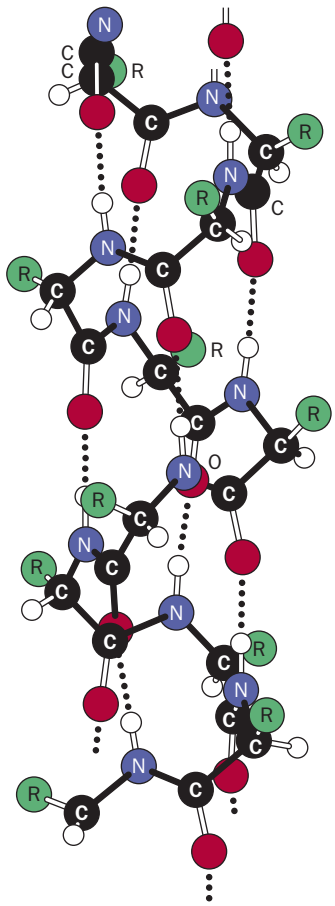


FIGURA 5-4 **Los enlaces de hidrógeno (líneas de puntos) formados entre los átomos H y O estabilizan un polipéptido en una conformación de la hélice α.**

Muchas hélices α tienen grupos R predominantemente hidrofóbicos que se proyectan desde un lado del eje de la hélice y grupos R predominantemente hidrofílicos que se proyectan desde el otro lado. Estas **hélices anfipáticas** están bien adaptadas a la formación de interfaces entre regiones polares y no polares, tales como el interior hidrofóbico de una proteína y su entorno acuoso. Los grupos de hélices anfipáticas pueden crear *canales*, o poros, a través de membranas celulares hidrofóbicas que permiten el paso de moléculas polares específicas.

Lámina beta

La segunda (de ahí "beta") estructura secundaria regular reconocible en proteínas es la lámina β. Los residuos de aminoácidos de una lámina β, cuando se ven desde el borde, forman un patrón en zigzag o plisado en el que los grupos R de residuos adyacentes se proyectan en direcciones opuestas. A diferencia de la estructura compacta de la hélice α, la cadena principal del péptido de la lámina β está muy extendida. Sin embargo, al igual que la hélice α, las láminas β obtienen gran parte de su estabilidad a partir de enlaces de hidrógeno entre los oxígenos de carbonilo y los hidrógenos de amida de enlaces peptídicos. Sin embargo, a diferencia de la hélice α, estos enlaces se forman con segmentos adyacentes de la lámina β (véase **figura 5-5**).

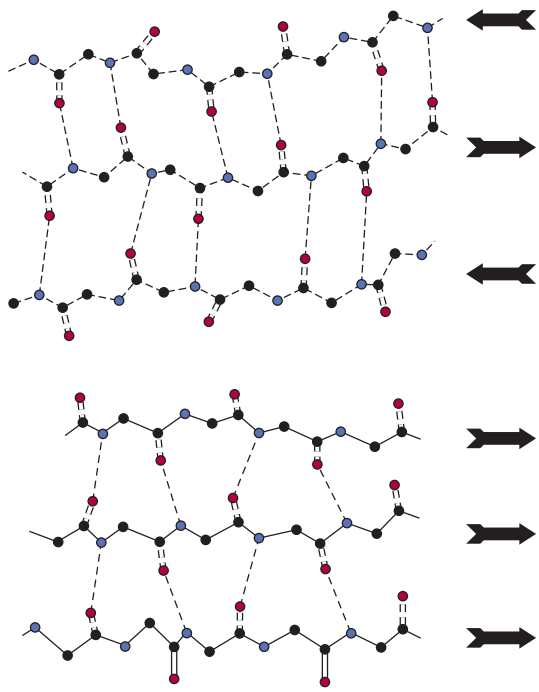


FIGURA 5-5 Ángulos espaciado y de unión de los enlaces de hidrógeno de láminas plegadas β paralelas y antiparalelas. Las flechas indican la dirección de cada filamento. Los enlaces de hidrógeno están indicados por líneas de puntos con los átomos de nitrógeno-α participantes (donantes de hidrógeno) y átomos de oxígeno (aceptores de hidrógeno) que se muestran en azul y rojo, respectivamente. Los átomos de carbono de la estructura se muestran en negro. Para mayor claridad en la presentación, se omiten los grupos R y los átomos de hidrógeno. **Arriba:** lámina β antiparalela. Los pares de enlaces de hidrógeno se alternan entre estar muy juntos y separados, y están orientados aproximadamente perpendiculares a la cadena principal del polipéptido. **Abajo:** lámina β paralela. Los enlaces de hidrógeno están uniformemente espaciados, pero oblicuos en direcciones alternativas.

Las láminas beta que interaccionan pueden disponerse para formar una lámina **beta paralela**, en la que los segmentos adyacentes de la cadena polipeptídica proceden en la misma dirección amino a carboxilo, o una lámina **antiparalela**, en la que proceden en direcciones opuestas (véase figura 5-5). Cualquiera de las configuraciones permite el número máximo de enlaces de hidrógeno entre los segmentos o hebras de la lámina. La mayoría de las láminas β no son perfectamente planas, pero tienden a tener un giro a la derecha. Los grupos de hebras trenzadas de lámina β, a veces denominadas barriles β, forman el núcleo de muchas proteínas globulares (consúltese **figura 5-6**). Los diagramas esquemáticos representan láminas β como flechas que apuntan en el amino a la dirección carboxilo terminal.

Bucles y torsiones

Aproximadamente la mitad de los residuos en una proteína globular "típica" residen en hélices α o láminas β, y la mitad en bucles, giros, torsiones y otras características conformacionales extendidas. Los giros y las torsiones se refieren a segmentos cortos de aminoácidos que unen dos unidades de la estructura secundaria, como dos hebras adyacentes de una lámina β antiparalela. Un giro β implica cuatro residuos de aminoacilo, en los que el primer residuo está unido por enlaces de hidrógeno al cuarto, lo que da como resultado un giro apretado de 180° (véase **figura 5-7**). La prolina y la glicina a menudo están presentes en giros β.

Los bucles son regiones que contienen residuos más allá del número mínimo necesario para conectar las regiones adyacentes de la estructura secundaria. Irregulares en su conformación, los bucles sin embargo cumplen funciones biológicas clave. Para muchas enzimas, los bucles que unen los dominios responsables de los sustratos de unión a menudo contienen residuos de aminoacilo que participan en la catálisis. Una **hélice-bucle-hélice básica** es un motivo estructural de proteínas que caracteriza a una familia de factores de transcripción. Los motivos estructurales como el motivo hélice-bucle-hélice o las manos EF de la calmodulina (véase capítulo 51), que son de escala intermedia entre estructuras secundarias y terciarias, a menudo se denominan **estructuras supersecundarias**. Dado que muchos bucles y torsiones residen en la superficie de las proteínas, y por tanto están expuestos al disolvente, constituyen sitios de fácil acceso, o **epítopes**, para el reconocimiento y la unión de anticuerpos.

Aunque los bucles carecen de aparente regularidad estructural, muchos adoptan una conformación específica estabilizada a través de enlaces de hidrógeno, puentes salinos e interacciones hidrofóbicas con otras porciones de la proteína. Sin embargo, no todas las porciones de proteínas están necesariamente ordenadas. Las proteínas pueden contener regiones "desordenadas", a menudo en el extremo terminal amino o carboxilo, caracterizadas por una alta flexibilidad conformacional. En muchos casos, estas regiones desordenadas asumen una conformación ordenada tras la unión de un ligando. Esta flexibilidad estructural permite que dichas regiones actúen como interruptores controlados por ligandos que afectan la estructura y función de la proteína.

Estructuras terciaria y cuaternaria

El término "estructura terciaria" se refiere a la conformación tridimensional completa de un polipéptido. Indica, en el espacio tri-

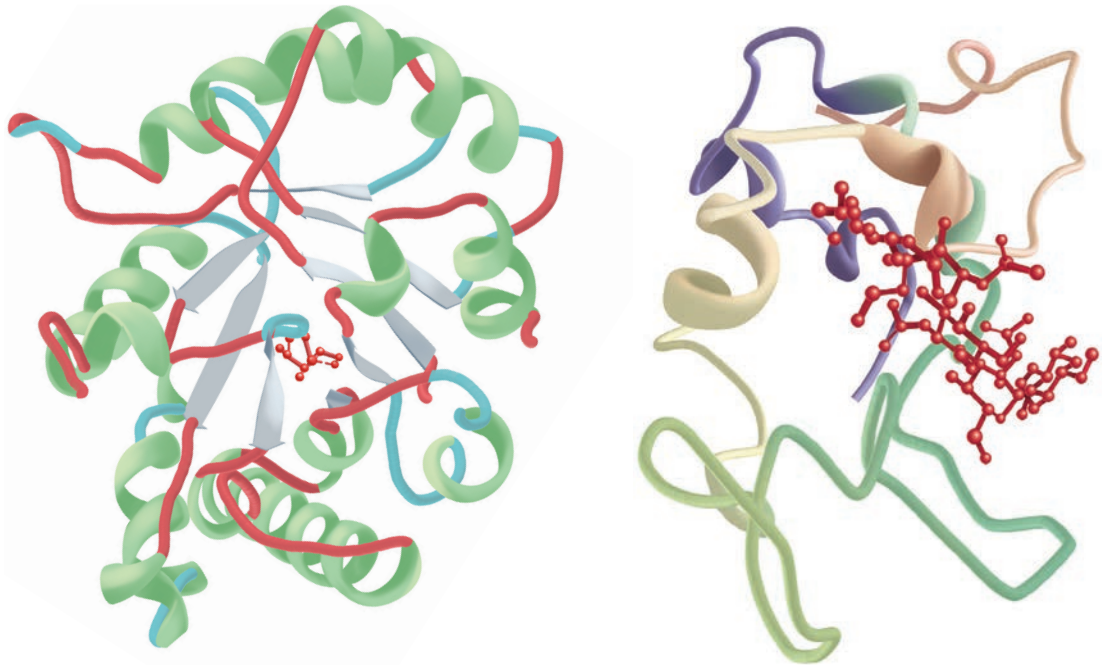


FIGURA 5-6 **Ejemplos de la estructura terciaria de las proteínas. Izquierda:** la enzima triosa fosfato isomerasa complejizada con el sustrato análogo 2-fosfoglicerato (rojo). Nótese la disposición elegante y simétrica de láminas β alternas (gris) y hélices α (verde), con las láminas β formando un núcleo barril β rodeado por las hélices. (Adaptada de Protein Data Bank ID núm. 1o5x). **Derecha:** la lisozima complejizada con el sustrato análogo penta-*N*-acetil-quitopentaosa (rojo). El color de la cadena polipeptídica se clasifica a lo largo del espectro visible desde púrpura (N-terminal) hasta color canela (C-terminal). Obsérvese que la forma cóncava del dominio forma un bolsillo de unión para el pentasacárido, la falta de lámina β y la alta proporción de bucles y torsiones. (Adaptada de Protein Data Bank ID nro. de 1sfb).

dimensional, cómo las características estructurales secundarias —hélices, láminas, torsiones, giros y bucles— se ensamblan para formar dominios y cómo estos dominios se relacionan entre sí de manera espacial. Un **dominio** es una sección de la estructura de proteína suficiente para realizar una tarea química o física particular tal como la unión de un sustrato u otro ligando. La mayoría de los dominios son de naturaleza modular, es decir, contiguos tanto en secuencia primaria como en espacio tridimensional (consúltese **figura 5-8**). Las proteínas simples, en particular las que interactúan con un único sustrato u otro ligando, como la lisozima, la triosa fosfato isomerasa (véase figura 5-6) o la mioglobina, proteína de almacenamiento de oxígeno (véase capítulo 6), a menudo consisten en un solo dominio. Por el contrario, la lactato deshidrogenasa está compuesta por dos dominios, un dominio de unión NAD^+ N-terminal y un dominio de unión C-terminal para el segundo sustrato, el piruvato (véase figura 5-8). La lactato deshidrogenasa es una de las familias de oxidorreductasas que comparten un dominio de unión $NAD(P)^+$ N-terminal común conocido como **plegamiento de Rossmann**. Al fusionar un segmento de DNA que codifica un dominio de plegamiento de Rossmann con el que codifica una variedad de dominios C-terminales, se ha desarrollado una gran familia de oxidorreductasas que utilizan $NAD(P)^+$/NAD(P)H para la oxidación y reducción de una amplia gama de metabolitos. Los ejemplos incluyen alcohol deshidrogenasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, quinona oxidorreductasa, 6-fosfogluconato deshidrogenasa, D-glicerato deshidrogenasa y formiato deshidrogenasa.

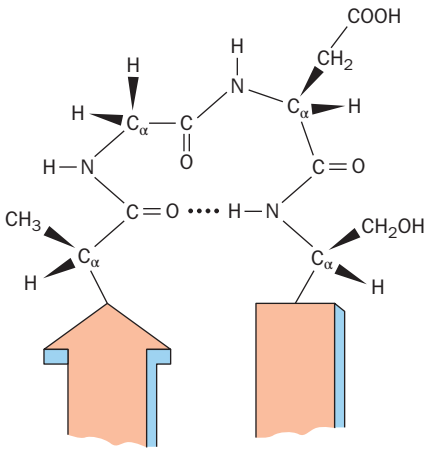


FIGURA 5-7 **Un giro β que une dos segmentos de lámina β antiparalela.** La línea de puntos indica el enlace de hidrógeno entre el primer y el cuarto aminoácidos del segmento de cuatro residuos Ala-Gly-Asp-Ser.

No todos los dominios unen sustratos. Los dominios hidrofóbicos anclan proteínas a las membranas o les permiten abarcar membranas. Las secuencias de localización dirigen las proteínas a ubicaciones subcelulares o extracelulares específicas, como el núcleo, las mitocondrias, las vesículas secretoras, etc. Los dominios reguladores desencadenan cambios en la función de la proteína en respuesta a la unión de efectores alostéricos o modificaciones covalentes (véase capítulo 9). La combinación de la codificación del material genético para los módulos de dominio individuales proporciona

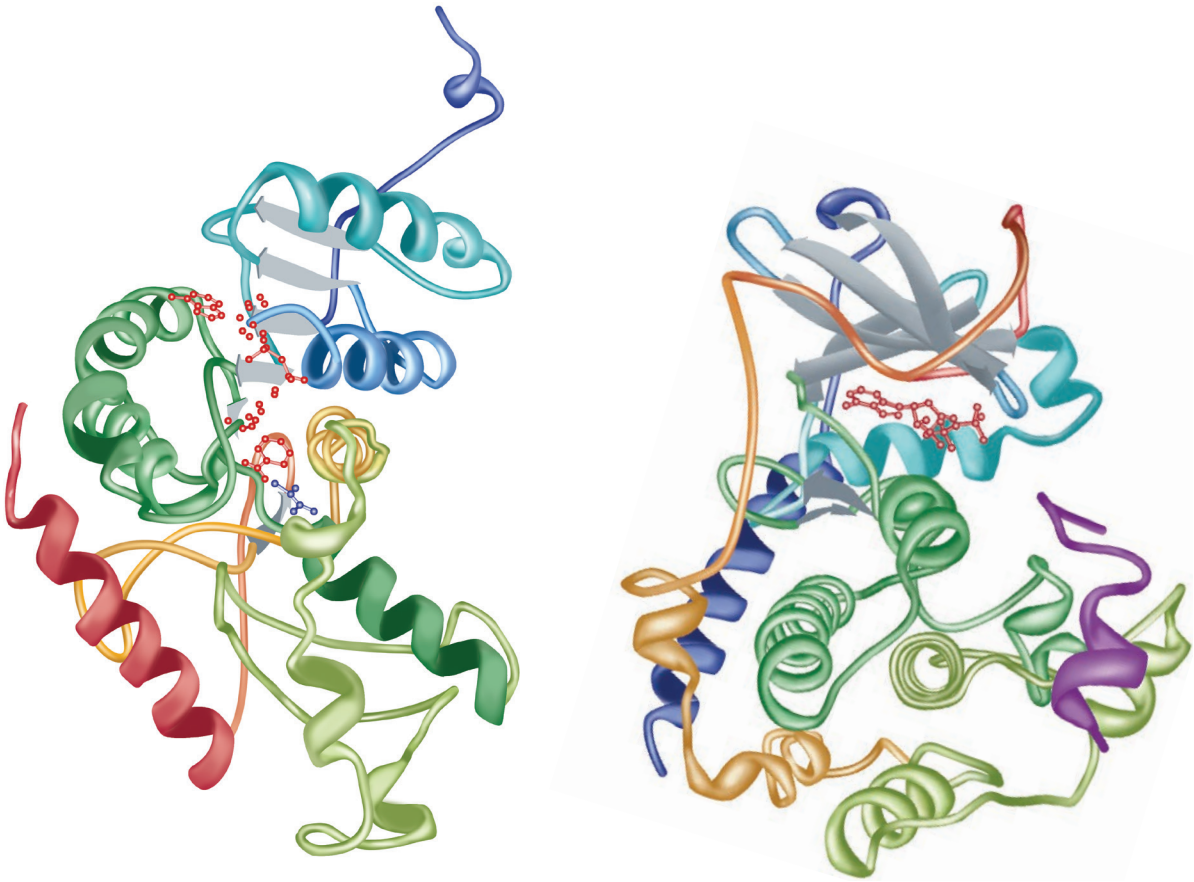


FIGURA 5-8 **Polipéptidos que contienen dos dominios. Izquierda:** se muestra la estructura tridimensional de una unidad monomérica de la enzima tetramérica lactato deshidrogenasa con los sustratos NADH (rojo) y piruvato (azul) unidos. No se muestran todos los enlaces en NADH. El color de la cadena polipeptídica se clasifica a lo largo del espectro visible desde azul (N-terminal) hasta naranja (C-terminal). Obsérvese cómo la porción N-terminal del polipéptido forma un dominio contiguo, que abarca la porción superior de la enzima, responsable de unirse al NADH. De forma similar, la porción C-terminal forma un dominio contiguo responsable de unirse al piruvato. (Adaptada de Protein Data Bank ID núm. 3ldh.) **Derecha:** se muestra la estructura tridimensional de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de cAMP (véase capítulo 42) con los análogos de sustrato ADP (rojo) y péptido (cinta morada) unidos. El color de la cadena polipeptídica se clasifica a lo largo del espectro visible desde azul (N-terminal) hasta naranja (C-terminal). Las proteínas cinasas transfieren el grupo γ-fosforil del ATP a los sustratos de proteínas y péptidos (véase capítulo 9). Obsérvese cómo la porción N-terminal del polipéptido forma un dominio contiguo rico en lámina β que se une a ADP. De forma similar, la porción C-terminal forma un dominio contiguo, rico en hélice α, responsable de unirse al sustrato peptídico. (Adaptada de Protein Data Bank ID núm. 1jbp).

una ruta fácil para generar proteínas de gran complejidad estructural y sofisticación funcional (consúltese **figura 5-9**).

Las proteínas que contienen dominios múltiples también se pueden ensamblar a través de la asociación de múltiples polipéptidos o protómeros. La estructura cuaternaria define la composición polipeptídica de una proteína y, para una proteína oligomérica, las relaciones espaciales entre sus protómeros o subunidades. Las proteínas **monoméricas** consisten en una única cadena polipeptídica. Las proteínas **diméricas** contienen dos cadenas polipeptídicas. Los **homodímeros** contienen dos copias de la misma cadena polipeptídica, mientras que en un **heterodímero** los polipéptidos difieren. Las letras griegas (α, β, γ, etc.) se utilizan para distinguir diferentes subunidades de una proteína heterooligomérica, y los subíndices indican el número de cada tipo de subunidad. Por ejemplo, α_4 designa una proteína homotetramérica, y $\alpha_2\beta_2\gamma$, una proteína con cinco subunidades de tres tipos diferentes.

Los diagramas esquemáticos resaltan las características estructurales específicas

Se puede acceder a la estructura tridimensional para literalmente miles de proteínas a través del Banco de Datos de Poteínas (*Protein Data Bank*, http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do) y otros repositorios. Aunque se pueden obtener imágenes que indican la posición de cada átomo, dado que incluso las proteínas pequeñas contienen muchos miles de átomos, tales representaciones son por lo general demasiado complejas para ser interpretadas con facilidad. Por tanto, los libros de texto, las revistas, los sitios web, a menudo utilizan diagramas esquemáticos simplificados diseñados para resaltar las características específicas de la estructura terciaria y cuaternaria de una proteína. Los diagramas de cinta (véanse figuras 5-6 y 5-8) trazan la conformación de la estructura del polipéptido, con cilindros y flechas que indican regiones de hélice α y lámina β, respectivamente. En una representación aún más simple, los

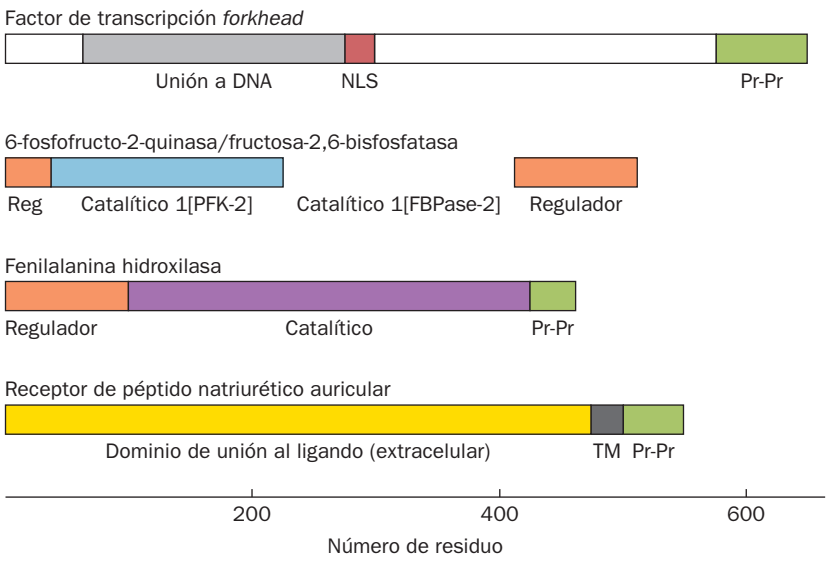


FIGURA 5-9 **Algunas proteínas de multidominio.** Los rectángulos representan las secuencias polipeptídicas de un factor de transcripción *forkhead*; 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa, una enzima bifuncional cuyas actividades son controladas de forma recíproca por los efectores alostéricos y la modificación covalente (véase capítulo 19); la fenilalanina hidroxilasa (véanse capítulos 27 y 29), cuya actividad se estimula por fosforilación de su dominio regulador, y un receptor para el receptor de péptido natriurético auricular, cuyo dominio intracelular transmite señales a través de interacciones proteína-proteína con proteínas de unión a GTP heterotriméricas (consúltese capítulo 42). Los dominios reguladores son de color naranja, dominios catalíticos en azul o púrpura, dominios de interacción proteína-proteína (Pr-Pr) en verde, dominios de unión a DNA en gris, secuencias de localización nuclear en rojo, dominios de unión a ligando en amarillo claro y dominios transmembrana en negro. La actividad de cinasa y bisfosfatasa de 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa está catalizada por los dominios catalíticos próximos N- (PFK-2) y C-terminal (FBP2-asa), respectivamente.

segmentos de línea que enlazan los carbonos α de cada residuo de aminoácido indican la trayectoria de la cadena principal del polipéptido. Para enfatizar relaciones de estructura y función específicas, estos diagramas esquemáticos a menudo representan las cadenas laterales de aminoácidos seleccionados.

FACTORES MÚLTIPLES ESTABILIZAN LAS ESTRUCTURAS TERCIARIA Y CUATERNARIA

Las categorías más altas de estructura proteica se estabilizan principalmente, y a menudo con exclusividad, mediante interacciones no covalentes. Entre estas interacciones hidrofóbicas se encuentran las que conducen a la mayoría de las cadenas laterales de aminoácidos hidrofóbicos hacia el interior de la proteína lejos del agua circundante. Otros contribuyentes significativos incluyen enlaces de hidrógeno y puentes de sal entre los carboxilatos de ácido aspártico y glutámico y las cadenas laterales cargadas de manera opuesta de residuos protónicos de lisilo, arginina e histidilo. Estas interacciones son débiles de forma individual: de 1 a 5 kcal/mol en relación con 80 a 120 kcal/mol para un enlace covalente. Sin embargo, al igual que un cierre de Velcro aprovecha la fuerza acumulativa de una multitud de diminutos bucles plásticos y anzuelos, colectivamente estas interacciones individualmente débiles pero numerosas confieren un alto grado de estabilidad a la conformación biológicamente funcional de una proteína.

Algunas proteínas contienen enlaces disulfuro covalentes (S—S) que unen los grupos sulfhidrilo de residuos de cisteinilo. La formación de enlaces disulfuro implica la oxidación de los grupos cisteinil sulfhidrilo y requiere oxígeno. Los enlaces disulfuro intrapolipéptido mejoran aún más la estabilidad de la conformación plegada de un péptido, mientras que los enlaces disulfuro interpolipéptido estabilizan la estructura cuaternaria de ciertas proteínas oligoméricas.

LAS TÉCNICAS BIOFÍSICAS REVELAN LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL

Cristalografía de rayos X

Siguiendo la solución de la estructura tridimensional de la mioglobina de John Kendrew en 1960, la cristalografía de rayos X ha revelado las estructuras de miles de macromoléculas biológicas que van desde proteínas hasta oligonucleótidos y virus. Para la solución de su estructura mediante cristalografía de rayos X, primero se precipita una proteína en condiciones que forman cristales bien ordenados. Para establecer las condiciones apropiadas, los ensayos de cristalización usan unos pocos microlitros de solución de proteína y una matriz de variables (temperatura, pH, presencia de sales o solutos orgánicos como polietilenglicol) para establecer las condiciones óptimas para la formación de cristales. Los cristales montados en capilares de cuarzo se irradian primero con rayos X monocromáticos de longitud de onda aproximada de 0.15 nm para confirmar que están compuestos de proteína, no de sales. Los cristales de proteínas pueden congelarse en nitrógeno líquido para la posterior recolección de un conjunto de datos de alta resolución. Los primeros cristalógrafos recogieron

los patrones circulares formados por los rayos X difractados en una película y los analizaron a mano. En la actualidad, los patrones se registran de manera electrónica con un detector de área, luego se analizan usando un enfoque matemático denominado *síntesis de Fourier*, que suma funciones de onda. Las amplitudes de onda están relacionadas con la intensidad del punto, pero como las ondas no están en fase, la siguiente relación entre sus fases debe determinarse para extrapolar las posiciones de los átomos que dieron lugar al patrón de difracción.

El enfoque tradicional para la solución del "problema de fase" emplea el **desplazamiento isomorfo**. Antes de la irradiación, un átomo con una "firma" distintiva de rayos X, como mercurio o uranio, se introduce en un cristal en posiciones conocidas en la estructura primaria de la proteína. Un enfoque alternativo utiliza la expresión de proteínas recombinantes codificadas por plásmidos en las que el selenio reemplaza el azufre de la metionina. La expresión usa un huésped bacteriano auxotrófico para la biosíntesis de metionina y un medio definido en el que la selenio-metionina reemplaza a la metionina. Si la estructura desconocida es similar a una que ya se ha resuelto, el **reemplazo molecular** en un modelo existente proporciona una forma atractiva de desfasar los datos sin el uso de átomos pesados. Finalmente, los resultados de la fase y las sumas de Fourier proporcionan un perfil de densidad electrónica o un mapa tridimensional de la forma en que los átomos están conectados o relacionados entre sí. La capacidad de algunas enzimas cristalizadas para actuar como catalizadores sugiere que sus estructuras cristalinas reflejan fielmente la de la enzima en solución libre.

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear

La espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR, *nuclear magnetic resonance*), un poderoso complemento de la cristalografía de rayos X, mide la absorbancia de la energía electromagnética de radiofrecuencia por parte de ciertos núcleos atómicos. Los isótopos "activos en NMR" de elementos biológicamente relevantes incluyen ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N y ^{31}P. La frecuencia, o desplazamiento químico, en la cual un núcleo particular absorbe energía es una función tanto del grupo funcional dentro del cual reside como de la proximidad de otros núcleos activos en NMR. Una vez limitados a metabolitos y macromoléculas relativamente pequeñas, hoy las proteínas y los complejos proteicos de >100 kDa pueden analizarse por NMR. Al medir la proximidad de los núcleos activos entre sí en NMR, la espectroscopia de NMR bidimensional permite una representación tridimensional de una proteína que se construirá. Dado que la espectroscopia de NMR analiza proteínas en solución acuosa, evita la necesidad de formar cristales (una ventaja particular cuando se trata de proteínas de membrana difíciles de cristalizar) y permite observar los cambios en la conformación que acompañan a la unión del ligando o catálisis en tiempo real. Como la NMR no es invasiva ni destructiva, también ofrece la posibilidad de que algún día se pueda observar la estructura y la dinámica de las proteínas (y metabolitos) dentro de las células vivas.

Microscopia electrónica

El desarrollo del microscopio en los años 1600 por **van Leeuwenhoek** provocó una revolución en la biología. Los científicos pudieron obtener imágenes bidimensionales que revelaron la naturaleza celular del tejido vivo y la existencia de microorganismos. Sin embargo, la resolución de los análisis microscópicos estuvo limitada por la longitud de onda relativamente larga de las fuentes disponibles de radiación electromagnética, por lo general luz visible ($4\text{-}7 \times 10^{-7}$ m). Mediante el recubrimiento de materiales diseminados en una monocapa con acetato de uranilo u otro compuesto que contenga metales pesados, la **microscopia electrónica** (EM, *electron microscopy*) puede emplear electrones de alta energía con longitudes de onda de $1\text{-}10 \times 10^{-12}$ m para generar imágenes de proyección bidimensional con una resolución de algunos angstroms.

Criomicroscopia electrónica

Los bioquímicos siempre han soñado con ver directamente las proteínas y otras macromoléculas biológicas de la misma manera que los microbiólogos y biólogos celulares pueden ver directamente las células vivas. Sin embargo, la resolución de los microscopios ópticos estaba intrínsecamente limitada por la longitud de onda de la luz. A mediados del siglo XX, los científicos desarrollaron microscopios electrónicos que utilizan haces de electrones como fuente de radiación electromagnética. La longitud de onda más baja de sus haces de electrones permitió que los microscopios electrónicos magnificaran objetos más de un millón de veces que cuando se utiliza un microscopio óptico, suficiente para visualizar macromoléculas grandes como los ribosomas y los plásmidos de DNA. Sin embargo, la alta energía del haz de electrones y la necesidad de trabajar en condiciones de alto vacío eran incompatibles con la supervivencia de las moléculas orgánicas.

En 2017, Jacques Dubochet, Joachim Frank y Richard Henderson recibieron el Premio Nobel por el desarrollo de la criomicroscopia electrónica (cryo-EM, *cryo electron microscopy*). La Crio-EM emplea medios ultrafríos como nitrógeno líquido (T alrededor de –195 °C), etano líquido o helio líquido para estabilizar biomoléculas en un estado hidratado y protegerlas del calentamiento cuando son bombardeadas por el haz de electrones. Esta técnica permite visualizar grandes macromoléculas y complejos macromoleculares. Las temperaturas extremadamente bajas confirieron el beneficio adicional de estabilizar estas macromoléculas en un *estado conformacional* particular, revelando así diferentes conformaciones estructurales. La tomografía genera imágenes tridimensionales de complejos biomacromoleculares en un estado conformacional dado mediante el uso de algoritmos informáticos para generar un compuesto utilizando las imágenes bidimensionales de complejos capturados en varias orientaciones diferentes en la cuadrícula de muestra de EM. El efecto de los factores que desencadenan cambios en el estado conformacional se puede determinar y comparar. La portada de este libro ilustra un ejemplo de crio-EM, una representación de 5 Å de las proteínas del virus Zika.

Modelado molecular

Un valioso complemento de la determinación empírica de la estructura tridimensional de las proteínas es el uso de la tecnología informática para el modelado molecular. Cuando se conoce la estructura tridimensional, los programas de **dinámica molecular** pueden usarse para simular la dinámica conformacional de una proteína y la manera en que factores tales como la temperatura, el pH, la fuerza iónica o las sustituciones de aminoácidos influyen en estos movimientos. Los programas de **acoplamiento molecular** simulan las interacciones que tienen lugar cuando una proteína encuentra un sustrato, un inhibidor u otro ligando. El análisis virtual de moléculas que probablemente interactúen con sitios clave en una proteína de interés biomédico se usa en gran medida para facilitar el descubrimiento de nuevos fármacos.

El modelado molecular también se emplea para inferir la estructura de las proteínas para las que aún no están disponibles las estructuras cristalográficas de rayos X o de NMR. Los algoritmos de estructura secundaria ponderan la propensión de residuos específicos para incorporarse en hélices α o láminas β en proteínas previamente estudiadas para predecir la estructura secundaria de otros polipéptidos. En el **modelado de homología**, la estructura tridimensional conocida de una proteína se usa como una plantilla sobre la cual se puede construir un modelo de la estructura *probable* de una proteína relacionada. Los científicos están trabajando para diseñar programas informáticos que pronosticarán con fiabilidad la conformación tridimensional de una proteína directamente a partir de su secuencia primaria, lo que permitirá la determinación de las estructuras de las muchas proteínas desconocidas de que carecen las plantillas en la actualidad.

PLEGAMIENTO DE PROTEÍNA

Las proteínas son moléculas conformacionalmente dinámicas que pueden plegarse en su conformación competente funcionalmente en un marco de tiempo de milisegundos. Además, a menudo pueden replegarse si su conformación se interrumpe, un proceso llamado renaturalización. ¿Cómo se logra la notable velocidad y fidelidad del plegamiento de proteínas? En la naturaleza, el plegamiento en el estado nativo ocurre demasiado rápido como para ser el producto de una búsqueda al azar y desorganizada de todas las estructuras posibles. Las proteínas desnaturalizadas no son simplemente espirales aleatorias. Se favorecen los contactos nativos, y las regiones de la estructura nativa persisten incluso en estado desnaturalizado. A continuación se discuten los factores que facilitan y son características mecánicas básicas del plegamiento y replegamiento de proteínas.

La conformación nativa de una proteína está termodinámicamente favorecida

La cantidad de combinaciones distintas de ángulos phi y psi que especifican las conformaciones potenciales incluso de un polipéptido relativamente pequeño de 15 kDa es increíblemente amplia. Las proteínas son guiadas a través de este vasto laberinto de posibilidades mediante la termodinámica. Dado que la conformación relevante de manera biológica o nativa de una proteína por lo general es la más favorecida enérgicamente, el conocimiento de la conformación nativa se especifica en la secuencia primaria. Sin embargo, si se esperara a que un polipéptido encontrara su conformación nativa por exploración aleatoria de todas las conformaciones posibles, el proceso requeriría miles de millones de años para completarse. Claramente, en la naturaleza, el plegamiento de proteínas tiene lugar de una manera más ordenada y guiada.

El plegamiento es modular

El plegamiento de las proteínas suele ocurrir por un proceso gradual. En la primera etapa, a medida que el polipéptido recién sintetizado emerge del ribosoma, los segmentos cortos se pliegan en unidades estructurales secundarias que proporcionan regiones locales de estructura organizada. El plegamiento en ese momento se reduce a la selección de una disposición apropiada de este número relativamente pequeño de elementos estructurales secundarios (de la misma manera en que se utiliza la clásica pregunta "¿animal, mineral o vegetal?" para comenzar una ronda del juego de salón "20 preguntas"). En la segunda etapa, las regiones hidrófobas se segregan en el interior de la proteína lejos del disolvente y forman un "glóbulo fundido", un polipéptido plegado de manera parcial en el que los módulos de estructura secundaria se reordenan hasta que se alcanza la conformación madura de la proteína. Este proceso es ordenado, pero no rígido. Existe una considerable flexibilidad en las formas y en el orden en que se pueden reorganizar los elementos de la estructura secundaria. En general, cada elemento de la estructura secundaria o supersecundaria facilita el plegamiento adecuado dirigiendo el proceso de plegamiento hacia la conformación nativa y lejos de alternativas improductivas. Para las proteínas oligoméricas, los protómeros individuales tienden a plegarse antes de que se asocien con otras subunidades.

La asistencia de proteínas auxiliares plegables

En condiciones adecuadas de laboratorio, muchas proteínas se replegarán espontáneamente después de ser **desnaturalizadas** (es decir, desplegadas) por tratamiento con ácido o base, agentes caotrópicos o detergentes. Sin embargo, el replegamiento bajo estas condiciones es lento, de minutos a horas. Además, la mayoría de las proteínas no se repliegan de manera espontánea *in vitro*. En su lugar, forman **agregados** insolubles, complejos desordenados de polipéptidos plegados, o plegados de manera parcial, que se mantienen juntos predominantemente por interacciones hidrofóbicas. Los agregados representan callejones sin salida improductivos en el proceso de plegamiento. Las células emplean proteínas auxiliares para acelerar el proceso y guiarlo hacia una conclusión productiva.

Las chaperonas

La proteína chaperona participa en el plegamiento de más de la mitad de todas las proteínas de mamíferos. La familia de chaperonas hsp70 (proteína de choque térmico de 70 kDa) se une a secuencias cortas de aminoácidos hidrofóbicos que emergen mientras se sintetiza un nuevo polipéptido, protegiéndolos del solvente. Las chaperonas previenen la agregación, con lo cual proporcionan una oportunidad para la formación de elementos estructurales secundarios apropiados y su posterior coalescencia en un glóbulo fundido. La familia de chaperonas hsp60, a veces llamadas chaperoninas, difiere en secuencia y estructura de hsp70 y sus homólogos. Las hsp60 actúan más tarde en el proceso de plegado, a menudo junto con una chaperona hsp70. La cavidad central de la chaperona hsp60 en forma de rosquilla proporciona un entorno no polar protegido en el que un polipéptido se puede plegar hasta que todas las regiones hidrófobas estén enterradas en su interior, lo que evita cualquier tendencia a la agregación.

Proteína disulfuro isomerasa

Los enlaces disulfuro entre, y dentro de, los polipéptidos estabilizan las estructuras terciarias y cuaternarias. El proceso es iniciado por la enzima proteína sulfidrilo oxidasa, que cataliza la oxidación de residuos de cisteína para formar enlaces disulfuro. Sin embargo, la formación de enlaces disulfuro es inespecífica: una cisteína dada puede formar un enlace disulfuro con cualquier residuo de cisteinilo accesible. Al catalizar el intercambio de disulfuro, la ruptura de un enlace S—S y su reformación con una cisteína asociada diferente, la proteína disulfuro isomerasa, facilita la formación de enlaces disulfuro que estabilizan la conformación nativa de una

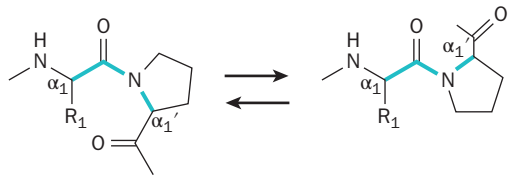


FIGURA 5-10 **Isomerización del enlace *N*-α_1 prolil-péptido de una configuración *cis* a una *trans* con respecto a la cadena principal del polipéptido.**

proteína. Dado que muchas sulfhidrilo oxidasas eucarióticas son dependientes de flavina, la deficiencia de riboflavina en la dieta a menudo va acompañada de una mayor incidencia de plegamiento incorrecto de proteínas que contienen disulfuro.

Isomerización *trans*, *cis*-prolina

Todos los enlaces peptídicos X-Pro, donde X representa cualquier residuo, se sintetizan en la configuración *trans*. Sin embargo, de los enlaces X-Pro de las proteínas maduras, aproximadamente 6% son *cis*. La configuración *cis* es en particular común en giros β. La isomerización de *trans* a *cis* está catalizada por prolil *cis-trans* isomerasa, una familia de enzimas también conocidas como ciclofilinas (consúltese **figura 5-10**). Además de promover la maduración de las proteínas nativas, las ciclofilinas también participan en el plegamiento de las proteínas expresadas por los invasores virales. En consecuencia, las ciclofilinas son perseguidas como objetivos para el desarrollo de fármacos como la ciclosporina y el alisporivir para el tratamiento del HIV, la hepatitis C y otras enfermedades de transmisión viral.

LA PERTURBACIÓN DE LA CONFORMACIÓN PROTEICA PUEDE TENER CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS

Priones

Las encefalopatías espongiformes transmisibles, o **enfermedades de priones**, son alteraciones neurodegenerativas fatales caracterizadas por cambios espongiformes, gliomas astrocíticos y pérdida neuronal resultante de la deposición de agregados de proteínas insolubles en las células neuronales. Incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en humanos, el prurigo lumbar en las ovejas y la encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas) en el ganado. Una variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (vCJD, *Creutzfeldt-Jacob disease*) que afecta a pacientes más jóvenes se asocia con trastornos psiquiátricos y de comportamiento de aparición temprana. Las enfermedades priónicas pueden manifestarse como trastornos infecciosos, genéticos o esporádicos. Debido a que no se pudo identificar ningún gen viral o bacteriano que codifique la proteína patológica del prion, la fuente y el mecanismo de transmisión de la enfermedad priónica permanecieron esquivos mucho tiempo.

Hoy se reconoce que las **enfermedades priónicas son alteraciones de la conformación de proteínas** transmitidas por la modificación de la conformación y, por tanto, de las propiedades físicas de las proteínas endógenas del huésped. La proteína relacionada con priones (PrP, *prion-related protein*) humanos, una glucoproteína codificada en el brazo corto del cromosoma 20, normalmente es monomérica y rica en hélices α. Las proteínas priónicas patológicas sirven como plantillas para la transformación conformacional de PrP normal, conocida como PrPc, en PrPsc. La PrPsc es rica en láminas β con muchas cadenas laterales de aminoacilo hidrófobas expuestas al disolvente. A medida que se forma cada nueva molécula de PrPsc, desencadena la producción de variantes aún más patológicas en una reacción en cadena conformacional. Debido a que las moléculas de PrPsc se asocian fuertemente entre sí a través de sus regiones hidrofóbicas expuestas, las unidades de PrPsc acumuladas se fusionan para formar agregados insolubles resistentes a la proteasa. Dado que un prion patológico o proteína relacionada con priones puede servir como plantilla para la transformación conformacional de muchas veces su número de moléculas PrPc, las enfermedades priónicas pueden transmitirse por la proteína sola sin la participación de DNA o RNA.

Enfermedad de Alzheimer

El replegamiento o mal plegamiento de otra proteína endógena del tejido cerebral humano, β-amiloide, es una característica prominente de la enfermedad de Alzheimer. Si bien la causa principal de la enfermedad sigue siendo esquiva, las placas seniles características y los haces neurofibrilares contienen agregados de la proteína β-amiloide, un polipéptido de 4.3 kDa producido por la escisión proteolítica de una proteína más grande conocida como proteína precursora amiloide. En pacientes con enfermedad de Alzheimer, los niveles de β-amiloide se elevan, y esta proteína experimenta una transformación conformacional desde un estado soluble en hélices α a un estado rico en láminas β y propenso a la autoagregación. La apolipoproteína E ha sido implicada como potencial mediador de esta transformación conformacional.

Beta-talasemias

Las talasemias son causadas por defectos genéticos que afectan la síntesis de una de las subunidades polipeptídicas de la hemoglobina (véase capítulo 6). Durante la explosión de la síntesis de hemoglobina que se produce durante el desarrollo de eritrocitos, una chaperona específica llamada proteína estabilizadora α hemoglobina (AHSP, α-*hemoglobin–stabilizing protein*) se une para liberar subunidades α hemoglobina esperando la incorporación en la hemoglobina multímero. En ausencia de esta chaperona, las subunidades α hemoglobina se agregan, y el precipitado resultante tiene efectos citotóxicos sobre el eritrocito en desarrollo. Las investigaciones con ratones genéticamente modificados sugieren un papel para AHSP en la modulación de la gravedad de la β-talasemia en seres humanos.

EL COLÁGENO ILUSTRA EL PAPEL DEL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL EN LA MADURACIÓN DE PROTEÍNAS

La maduración de proteínas a menudo implica la fabricación y ruptura de enlaces covalentes

La maduración de proteínas en su estado estructural final a menudo implica la división o formación (o ambos) de enlaces covalentes, un proceso de **modificación postraduccional**.

Muchos polipéptidos se sintetizan inicialmente como precursores más grandes llamados **proproteínas**. Los segmentos polipeptídicos "extra" en estas proproteínas a menudo sirven como secuencias líderes que dirigen un polipéptido a un orgánulo particular o facilitan su paso a través de una membrana. Otros segmentos aseguran que la actividad potencialmente dañina de una proteína como la proteasa tripsina y quimotripsina permanezca inhibida hasta que esta proteína llegue a su destino final. Sin embargo, una vez que se cumplen estos requisitos transitorios, las regiones peptídicas ahora superfluas se eliminan mediante proteólisis selectiva. Otras modificaciones covalentes pueden agregar nuevas funcionalidades químicas a una proteína. La maduración del colágeno ilustra ambos procesos.

El colágeno es una proteína fibrosa

El colágeno es la proteína fibrosa más abundante que constituye más de 25% de la masa de proteína en el cuerpo humano. Otras proteínas fibrosas prominentes incluyen queratina y miosina. Estas proteínas fibrosas representan una fuente primaria de resistencia estructural para las células (es decir, el citoesqueleto) y los tejidos. La piel obtiene su fuerza y flexibilidad a partir de una malla entrelazada de fibras de colágeno y queratina, mientras que los huesos y los dientes están reforzados por una red subyacente de fibras de colágeno similar a las hebras de acero en el hormigón armado. El colágeno también está presente en los tejidos conectivos, como ligamentos y tendones. El alto grado de resistencia a la tracción que se necesita para cumplir estos roles estructurales requiere proteínas alargadas caracterizadas por secuencias repetitivas de aminoácidos y una estructura secundaria regular.

El colágeno forma una triple hélice única

El tropocolágeno, la unidad repetitiva de una fibra de colágeno madura, consta de tres polipéptidos de colágeno, cada uno con aproximadamente 1 000 aminoácidos, agrupados en una conformación única, la triple hélice de colágeno (consúltese **figura 5-11**). Una fibra de colágeno madura forma una varilla alargada con una relación axial de 200 aproximadamente. Tres hebras polipeptídicas entrecruzadas, que se tuercen hacia la izquierda, se envuelven una a la otra de forma diestra para formar la triple hélice de colágeno. La lateralidad opuesta de esta superhélice y sus polipéptidos componentes hace que la triple hélice de colágeno sea altamente resistente al desenrollamiento, un principio que también se aplica a los cables de acero de los puentes colgantes. Una triple hélice de colágeno tiene 3.3 residuos por vuelta y un aumento por residuo casi el doble que una hélice α. Los grupos R de cada hebra polipeptídica del paquete de triple hélice están tan próximos que, para ajustarse, uno de los tres debe ser H. Por tanto, cada tercer residuo de aminoácido en el colágeno es un residuo de glicina. El escalonamiento de los tres filamentos proporciona un posicionamiento apropiado de las glicinas requeridas en toda la hélice. El colágeno también es rico en prolina e hidroxiprolina, lo que produce un patrón repetitivo de Gly-X-Y (véase figura 5-11) en el que Y por lo general es prolina o hidroxiprolina.

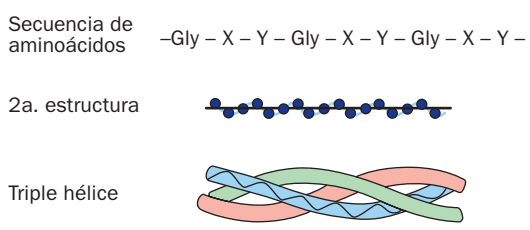


FIGURA 5-11 **Estructuras primaria, secundaria y terciaria de colágeno.**

Las triples hélices de colágeno se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno entre residuos en *diferentes* cadenas polipeptídicas, un proceso ayudado por los grupos hidroxilo de residuos de hidroxipropilo. Se proporciona estabilidad adicional mediante enlaces cruzados covalentes formados entre residuos de lisilo modificados tanto dentro como entre las cadenas polipeptídicas.

El colágeno se sintetiza como un precursor más grande

El colágeno se sintetiza inicialmente como un polipéptido precursor más grande, el procolágeno. Numerosos residuos de prolina y lisina de procolágeno son hidroxilados por la prolil hidroxilasa y la lisil hidroxilasa, enzimas que requieren ácido ascórbico (vitamina C, véanse capítulos 27 y 44). Los residuos de hidroxipropilo e hidroxilisilo proporcionan una capacidad adicional de unión de hidrógeno que estabiliza la proteína madura. Además, las glucosil y galactosil transferasas unen residuos de glucosil o galactosil a los grupos hidroxilo de residuos específicos de hidroxilisilo.

La porción central del polipéptido precursor se asocia luego con otras moléculas para formar la triple hélice característica. Este proceso va acompañado de la eliminación de las extensiones globulares amino terminales y carboxilo terminales del polipéptido precursor mediante proteólisis selectiva. Ciertos residuos de lisilo son modificados por la lisil oxidasa, una proteína que contiene cobre que convierte grupos ε-amino en aldehídos. Los aldehídos pueden experimentar una condensación aldólica para formar un doble enlace C═C o formar una base de Schiff (eneimina) con el grupo ε-amino de un residuo lisilo no modificado, que posteriormente se reduce para formar un enlace sencillo C—N. Estos enlaces covalentes reticulan los polipéptidos individuales e imbuyen a la fibra con una resistencia y rigidez excepcionales.

Los trastornos nutricionales y genéticos pueden afectar la maduración del colágeno

La compleja serie de eventos en la maduración del colágeno proporciona un modelo que ilustra las consecuencias biológicas de la maduración incompleta de los polipéptidos. El defecto más conocido en la biosíntesis de colágeno es el **escorbuto**, un resultado de una deficiencia dietética de vitamina C requerida por las prolil y lisil hidroxilasas. El déficit resultante en el número de residuos de hidroxiprolina e hidroxilisina socava la estabilidad conformacional de las fibras de colágeno, lo que provoca sangrado de las encías, hinchazón de las articulaciones, mala cicatrización de las heridas y, en última instancia, la muerte. El **síndrome de Menkes**, caracterizado por cabello crespo y retraso del crecimiento, refleja una deficiencia dietética del cobre requerido por la lisil oxidasa, que cataliza un paso clave en la formación de los enlaces cruzados covalentes que fortalecen las fibras de colágeno.

Los trastornos genéticos de la biosíntesis de colágeno incluyen varias formas de osteogénesis imperfecta, caracterizadas por huesos frágiles. En el síndrome de Ehlers-Danlos, un grupo de trastornos del tejido conectivo que implican una alteración de la integridad de las estructuras de soporte, los defectos en los genes que

codifican α colágeno-1, procolágeno *N*-peptidasa o lisil hidroxilasa dan lugar a articulaciones móviles y anormalidades de la piel (véase capítulo 50).

RESUMEN

- Las proteínas se pueden clasificar según su solubilidad, forma o función o la presencia de un grupo prostético, como el hemo.
- La estructura primaria codificada por un gen de un polipéptido es la secuencia de sus aminoácidos. Su estructura secundaria resulta del plegamiento de polipéptidos en motivos unidos a hidrógeno tales como las hélices α, las láminas β plegadas, las torsiones β y los bucles. Las combinaciones de estos motivos pueden formar motivos supersecundarios.
- La estructura terciaria se refiere a las relaciones entre los dominios estructurales secundarios. La estructura cuaternaria de proteínas con dos o más polipéptidos (proteínas oligoméricas) se refiere a las relaciones espaciales entre varios tipos de polipéptidos.
- Las estructuras primarias se estabilizan mediante enlaces peptídicos covalentes. Mayores categorías de estructura se estabilizan por fuerzas débiles: enlaces de hidrógeno múltiples, enlaces de sal (electrostática) y asociación de grupos R hidrofóbicos.
- El ángulo phi (ϕ) de un polipéptido es el ángulo alrededor del enlace C_α—N; el ángulo psi (ψ) es el del enlace C_α—C_o. La mayoría de las combinaciones de ángulos phi-psi no están permitidas debido a impedimentos estéricos. Los ángulos phi-psi que forman las hélices α y las láminas β caen dentro de los cuadrantes de la izquierda inferior y superior de un diagrama de Ramachandran, respectivamente.
- El plegamiento de proteínas es un proceso poco conocido. En términos generales, segmentos cortos de polipéptido recién sintetizado se pliegan en unidades estructurales secundarias. Las fuerzas que entierran las regiones hidrofóbicas del disolvente conducen luego el polipéptido parcialmente plegado a un "glóbulo fundido" en el que los módulos de la estructura secundaria se reorganizan para dar la conformación nativa de la proteína.
- Las proteínas que ayudan al plegamiento incluyen proteína disulfuro isomerasa, prolina-*cis*, *trans*-isomerasa y las chaperonas que participan en el plegamiento de más de la mitad de las proteínas de mamíferos. Las chaperonas protegen a los polipéptidos recién sintetizados del solvente y proporcionan un entorno para que emerjan los elementos de la estructura secundaria y se fusionen en glóbulos fundidos.
- En la actualidad los investigadores biomédicos trabajan para desarrollar agentes que interfieran con el plegamiento de proteínas virales y priones como fármacos para el tratamiento de la hepatitis C y una variedad de trastornos neurodegenerativos.
- La cristalografía de rayos X y la NMR son técnicas clave utilizadas para estudiar categorías superiores de estructura proteica.
- Aunque carece de la resolución a nivel atómico de la cristalografía de rayos X o de la NMR, la crio-EM se ha convertido en una poderosa herramienta para analizar la dinámica macromolecular de las macromoléculas biológicas en muestras heterogéneas.
- Los priones, partículas de proteínas que carecen de ácido nucleico, causan encefalopatías espongiformes transmisibles fatales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el prurigo lumbar y la encefalopatía espongiforme bovina. Las enfermedades priónicas implican una estructura secundaria-terciaria alterada de una proteína de origen natural la PrPc. Cuando la PrPc interactúa con su isoforma patológica la PrPsc, su conformación se transforma de una estructura predominantemente α-helicoidal a la estructura de lámina β característica de PrPsc.
- El colágeno ilustra la estrecha vinculación entre la estructura de la proteína y la función biológica. Las enfermedades de la maduración del colágeno incluyen el síndrome de Ehlers-Danlos y el escorbuto de deficiencia de vitamina C.

REFERENCIAS

Doyle SM, Genest O, Wickner S. Protein rescue from aggregates by powerful molecular chaperone machines. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013;10:617.

Frausto SD, Lee E, Tang H. Cyclophilins as modulators of viral replication. *Viruses* 2013;5:1684.

Gianni S, Jemth P. Protein folding: vexing debates on a fundamental problem. *Biophys Chem* 2016;212:17.

Hartl FU, Hayer-Hartl M. Converging concepts of protein folding *in vitro* and *in vivo*. *Nat Struct Biol* 2009;16:574.

Jucker M, Walker LC. Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature* 2013;501:45.

Kim YE, Hipp MS, Bracher A, *et al*. Molecular chaperone functions in protein folding and proteostasis. *Annu Rev Biochem* 2013;82:323.

Lee J, Kim SY, Hwang KJ, *et al*. Prion diseases as transmissible zoonotic diseases. *Osong Public Health Res Perspect* 2013;4:57.

Narayan M. Disulfide bonds: protein folding and subcellular protein trafficking. *FEBS J* 2013;279:2272.

Rider MH, Bertrand L, Vertommen D, *et al.* 6-Phosphofructo2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. *Biochem J* 2004;381:561.

Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem* 2009;78:929.

White HE, Ignatiou A, Clare DK, *et al.* Structural study of heterogeneous biological samples by cryoelectron microscopy and image processing. *Biomed Res Int* 2017;2017:1032432.

Preguntas del examen

Sección I. Proteínas: estructura y función

1. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. La fermentación y la glucólisis comparten muchas características bioquímicas comunes.
   B. Louis Pasteur descubrió por primera vez que las preparaciones de levadura libres de células podían convertir los azúcares en etanol y dióxido de carbono.
   C. El ortofosfato orgánico (P_i) es esencial para la glucólisis.
   D. El ^{14}C es una herramienta importante para detectar intermedios metabólicos.
   E. La medicina y la bioquímica proporcionan información mutua.
2. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. El derivado de vitamina NAD es esencial para la conversión de glucosa en piruvato.
   B. El término "Errores innatos del metabolismo" fue acuñado por el médico Archibald Garrod.
   C. Las porciones de tejido de mamífero pueden incorporar amoniaco inorgánico en urea.
   D. La comprensión de que el DNA es una doble hélice permitió a Watson y Crick describir la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*).
   E. La mutación del genoma de un "organismo modelo" puede proporcionar una idea de los procesos bioquímicos.
3. Explique cómo la observación de Büchner en la primera parte del siglo XX llevó al descubrimiento de los detalles de la fermentación.
4. Mencione algunos de los primeros descubrimientos que siguieron a la constatación de que una preparación libre de células de levadura podría catalizar el proceso de fermentación.
5. Mencione algunos de los tipos de preparaciones de tejidos que los bioquímicos de principios del siglo XX emplearon para estudiar la glucólisis y la biosíntesis de urea, y para descubrir el papel de los derivados de vitaminas.
6. Describa cómo la disponibilidad de isótopos radiactivos facilitó la identificación de intermedios metabólicos.
7. Nombre varios de los "errores innatos del metabolismo" identificados por el médico Archibald Garrod.
8. Cite un ejemplo en el metabolismo lipídico para el cual la vinculación de enfoques bioquímicos y genéticos ha contribuido al avance de la medicina y la bioquímica.
9. Nombre varios de los "organismos modelo" intactos cuyos genomas pueden alterarse selectivamente para proporcionar una idea de los procesos bioquímicos.
10. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.

    La propensión de las moléculas de agua a formar enlaces de hidrógeno entre sí es el principal factor responsable de todas las siguientes propiedades del agua, EXCEPTO:
    A. Su punto de ebullición atípicamente alto.
    B. Su alto calor de vaporización.
    C. Su alta tensión superficial.
    D. Su capacidad para disolver hidrocarburos.
    E. Su expansión al congelarse.
11. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
    A. Las cadenas laterales de los aminoácidos cisteína y metionina absorben la luz a 280 nm.
    B. La glicina a menudo está presente en regiones donde el polipéptido forma una torsión cerrada, invirtiendo la dirección del olipéptido.
    C. Los polipéptidos se nombran como derivados del resto aminoacilo C-terminal.
    D. Los átomos C, N, O y H de un enlace peptídico son coplanares.
    E. Un pentapéptido lineal contiene cuatro enlaces peptídicos.
12. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
    A. Los tampones de tejido humano incluyen bicarbonato, proteínas y ortofosfato.
    B. Un ácido débil o una base débil exhibe su mayor capacidad de amortiguación cuando el pH es igual a su pK_a más o menos una unidad de pH.
    C. El pH isoeléctrico (pI, *isoelectric pH*) de la lisina puede calcularse usando la fórmula $(pK_2 + pK_3)/2$.
    D. La movilidad de un ácido débil monofuncional en un campo eléctrico de corriente continua alcanza su máximo cuando el pH de su ambiente circundante es igual a su pK_a.
    E. Por simplicidad, las fortalezas de las bases débiles se expresan por lo general como el pK_a de sus ácidos conjugados.
13. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
    A. Si el pK_a de un ácido débil es 4.0, 50% de las moléculas estarán en el estado disociado cuando el pH del ambiente circundante sea 4.0.
    B. Un ácido débil con un pK_a de 4.0 será un tampón más eficaz a pH 3.8 que a pH 5.7.
    C. A un pH igual a su pI, un polipéptido no lleva grupos cargados.
    D. Los ácidos y bases fuertes se denominan así porque se disocian por completo cuando se disuelven en agua.
    E. El pK_a de un grupo ionizable puede verse influido por las propiedades físicas y químicas de su entorno circundante.
14. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
    A. Un objetivo principal de la proteómica es identificar todas las proteínas presentes en una célula en diferentes condiciones, así como sus estados de modificación.
    B. La espectrometría de masas ha reemplazado en gran parte al método de Edman para la secuenciación de péptidos y proteínas.
    C. El reactivo de Sanger fue una mejora en Edman porque el primero genera un nuevo término amino, lo que permite que tengan lugar varios ciclos consecutivos de secuenciación.
    D. Dado que la masa es una propiedad universal de todos los átomos y moléculas, la espectrometría de masas es ideal para la detección de modificaciones postraduccionales en proteínas.
    E. Los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo aprovechan la relación F = ma.
15. ¿Por qué el aceite de oliva añadido al agua tiende a formar gotas grandes?
16. ¿Qué distingue una base fuerte de una base débil?
17. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
    A. La cromatografía de intercambio iónico separa las proteínas en función del signo y la magnitud de su carga a un pH dado.
    B. La electroforesis en gel bidimensional separa las proteínas primero sobre la base de sus valores de pI y, en segundo lugar, su relación carga-masa usando SDS-PAGE.

C. La cromatografía de afinidad explota la selectividad de las interacciones de proteína-ligando para aislar una proteína específica de una mezcla compleja.
D. Muchas proteínas recombinantes se expresan con un dominio adicional fusionado a su extremo N o C terminal. Un componente común de estos dominios de fusión es un sitio de unión a ligando diseñado expresamente para facilitar la purificación por cromatografía de afinidad.
E. Después de la purificación por técnicas clásicas, lo típico es que la espectrometría de masas en tándem se use para analizar péptidos homogéneos individuales derivados de una mezcla de proteínas complejas.

18. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. El plegamiento de proteínas es asistido por la intervención de proteínas auxiliares especializadas llamadas chaperonas.
B. El plegamiento de proteínas tiende a ser modular, con áreas de estructura secundaria local que se forman primero, luego se unen en un glóbulo fundido.
C. El plegamiento de la proteína es impulsado en primer lugar por la termodinámica de las moléculas de agua que rodean al polipéptido naciente.
D. La enzima proteína disulfuro isomerasa facilita la formación de enlaces S—S en una proteína madura.
E. Sólo unas pocas proteínas inusuales, como el colágeno, requieren un procesamiento postraduccional mediante proteólisis parcial para alcanzar su conformación madura.

19. Estime el pI para un polielectrólito que contiene tres grupos carboxilo y tres grupos amino cuyos valores de pK_a son 4.0, 4.6, 6.3, 7.7, 8.9 y 10.2.

20. Indique una desventaja de la categorización de los aminoácidos proteicos simplemente como "esencial" o "no esencial".

21. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. Las modificaciones postraduccionales de las proteínas pueden afectar tanto su función como su destino metabólico.
B. El estado conformacional nativo por lo general es el que está favorecido de manera termodinámica.
C. Las complejas estructuras tridimensionales de la mayoría de las proteínas se forman y estabilizan por los efectos acumulativos de un gran número de interacciones débiles.
D. Los científicos investigadores emplean matrices de genes para la detección de alto rendimiento de la presencia y el nivel de expresión de las proteínas.
E. Los ejemplos de interacciones débiles que estabilizan el plegamiento de proteínas incluyen enlaces de hidrógeno, puentes de sal y fuerzas de Van der Waals.

22. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. Los cambios en la configuración implican la ruptura de enlaces covalentes.
B. Los cambios en la conformación involucran la rotación de uno o más enlaces simples.
C. El diagrama de Ramachandran ilustra el grado en que el impedimento estérico limita los ángulos permisibles de los enlaces simples en la cadena principal de un péptido o proteína.
D. La formación de una hélice α se estabiliza mediante los enlaces de hidrógeno entre cada enlace peptídico oxígeno carboxílico y el grupo NH del siguiente enlace peptídico.
E. En una lámina β, los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas con relación al plano de la lámina.

23. De las siguientes afirmaciones seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. El descriptor $\alpha_2\beta_2\gamma_3$ denota una proteína con siete subunidades de tres tipos diferentes.
B. Los bucles son regiones extendidas que conectan las regiones adyacentes de la estructura secundaria.
C. Más de la mitad de los residuos en una proteína típica residen en hélices α o láminas β.
D. La mayoría de las láminas β tienen un giro a la derecha.
E. Los priones son virus que causan enfermedades de plegamiento de proteínas que atacan el cerebro.

24. ¿Qué ventaja tiene el grupo ácido del ácido fosfórico que está asociado con pK_2 para amortiguar en los tejidos humanos?

25. Se ha determinado que las constantes de disociación para un aminoácido racémico previamente descubierto no caracterizado en un meteoro son p$K_1 = 2.0$, p$K_2 = 3.5$, p$K_3 = 6.3$, p$K_4 = 8.0$, p$K_5 = 9.8$ y p$K_7 = 10.9$:
A. ¿Qué carboxilo o grupo funcional amino se esperaría que esté asociado con cada disociación?
B. ¿Cuál sería la carga neta aproximada de este aminoácido a pH 2?
C. ¿Cuál sería su carga neta aproximada a pH 6.3?
D. Durante la electroforesis de corriente continua a pH 8.5, ¿hacia qué electrodo podría moverse este aminoácido?

26. Un tampón bioquímico es un compuesto que tiende a resistir cambios en el pH incluso cuando se agregan ácidos o bases. ¿Cuáles dos propiedades se requieren para un tampón fisiológico efectivo? Además del fosfato, ¿qué otros compuestos fisiológicos cumplen estos criterios?

27. Nombre dos aminoácidos cuya modificación postraduccional confiere nuevas propiedades significativas a una proteína.

28. Explique por qué las dietas deficientes en *a*) cobre (Cu) o *b*) ácido ascórbico conducen a un procesamiento postraduccional incompleto de colágeno.

29. Describa el papel de las secuencias de señal N-terminal en la biosíntesis de ciertas proteínas.

SECCIÓN II

Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y función de los metales de transición

CAPÍTULO 6

Proteínas: mioglobina y hemoglobina

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las similitudes y diferencias estructurales más importantes entre la mioglobina y la hemoglobina.
- Representar las curvas de unión para la oxigenación de la mioglobina y la hemoglobina.
- Identificar los enlaces covalentes y otras asociaciones cercanas entre el grupo hemo y la globina en la oximioglobina y oxihemoglobina.
- Explicar por qué la función fisiológica de la hemoglobina requiere una curva de unión al O_2 de tipo sigmoidea en vez de hiperbólica.
- Explicar el papel de la histidina distal en la capacidad de la hemoglobina para unirse al monóxido de carbono (CO).
- Definir P_{50} e indicar su importancia en el transporte y la distribución del oxígeno.
- Describir los cambios estructurales y conformacionales en la hemoglobina que acompañan a su oxigenación y posterior desoxigenación.
- Explicar el papel del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en la unión y el suministro de oxígeno.
- Explicar cómo el efecto Bohr aumenta la capacidad de los glóbulos rojos para transportar CO_2 y llevarlo a los pulmones.
- Describir las consecuencias estructurales de la hemoglobina S (HbS) en la disminución de Po_2.
- Identificar el defecto metabólico que ocurre como consecuencia de las talasemias α y β.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La distribución eficiente de oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos periféricos y el mantenimiento de las reservas tisulares para proteger contra los episodios anóxicos son esenciales para la salud. En los mamíferos, estas funciones son realizadas por las proteínas hemo homólogas hemoglobina y mioglobina, respectivamente. La mioglobina, una proteína monomérica del músculo rojo, se une fuertemente al oxígeno como reserva contra la carencia de oxígeno. Las múltiples subunidades de la hemoglobina, una proteína tetramérica de los eritrocitos, interactúan de forma cooperativa, lo que permite a este transportador descargar una alta proporción de O_2 unido en los tejidos periféricos, al mismo tiempo que mantiene la capacidad de retenerlo eficientemente en los pulmones. Además de distribuir O_2, la unión de protones a la hemoglobina ayuda en el transporte de CO_2 (un producto importante de la respiración) a los

pulmones para su eliminación. El suministro de oxígeno se ve reforzado por la unión del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG), que estabiliza la estructura cuaternaria de la desoxihemoglobina.

La hemoglobina y la mioglobina ilustran tanto las relaciones de la estructura-función de la proteína como la base molecular de trastornos genéticos como la enfermedad de células falciformes y las talasemias. El cianuro y el monóxido de carbono (CO) ocasionan la muerte porque interrumpen la función fisiológica de la hemoproteína citocromo oxidasa y la hemoglobina, respectivamente.

HEMO Y HIERRO FERROSO CONFIEREN LA CAPACIDAD DE ALMACENAR Y TRANSPORTAR OXÍGENO

La mioglobina y la hemoglobina contienen **hemo**, un tetrapirrol cíclico que tiene hierro y consiste en cuatro moléculas de pirrol conectadas por puentes de **metino**. Esta red plana de dobles enlaces conjugados absorbe la luz visible y colorea de rojo oscuro al hemo. Los sustituyentes en las posiciones β del hemo son grupos metilo (M), vinilo (V) y propionato (Pr) dispuestos en el orden M, V, M, V, M, Pr, Pr, M (**figura 6-1**). Un átomo de hierro ferroso (Fe^{2+}) se encuentra en el centro del tetrapirrol plano. La reducción del Fe^{2+} de la mioglobina o la hemoglobina a Fe^{3+} destruye su actividad biológica. Otras proteínas con grupos protésicos de tetrapirrol que contienen metales incluyen los citocromos (Fe y Cu) y la clorofila (Mg) (véase capítulo 31).

La mioglobina es rica en hélice α

El oxígeno almacenado en la mioglobina del músculo rojo se libera durante la carencia de O_2 (p. ej., ejercicio intenso) para su uso en las mitocondrias musculares para la síntesis aeróbica de ATP (véase capítulo 13). La molécula de mioglobina plegada de forma compacta mide 4.5 × 3.5 × 2.5 nm, un polipéptido de 153 residuos de aminoácidos (PM 17000) (**figura 6-2**). Una proporción inusualmente alta, cercana al 75%, de los residuos están presentes en ocho hélices α con giro a la derecha de 7 a 20 residuos cada una. Comenzando en el extremo amino terminal, estas se denominan hélices A hasta la H. Típico de las proteínas globulares, la superficie de la mioglobina es rica en aminoácidos con cadenas laterales polares y potencialmente cargadas, mientras que —con dos excepciones— el interior contiene residuos con grupos R no polares (p. ej., Leu, Val, Phe y Met). Las excepciones son el séptimo y el octavo residuos en las hélices E y F, His E7 e His F8, que se encuentran cerca del hierro hemo, el sitio de unión del O_2.

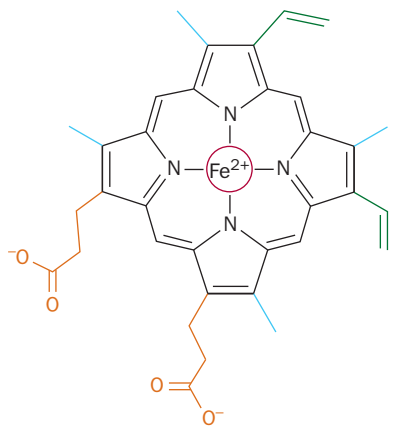


FIGURA 6-1 **Hemo.** Los anillos de pirrol y los carbonos de los puentes de metino son coplanares, y el átomo de hierro (Fe^{2+}) reside casi el mismo plano. Las posiciones de coordinación quinta y sexta del Fe^{2+}, quinta y sexta, son directamente perpendiculares al, y directamente arriba y abajo, plano del anillo de hemo. Observe la naturaleza de los grupos sustituyentes metilo (azul), vinilo (verde) y propionato (naranja) en los carbonos β de los anillos de pirrol, el átomo de hierro central (rojo) y la ubicación del lado polar del anillo de hemo (aproximadamente a las 7 en punto) que mira hacia la superficie de la molécula de mioglobina.

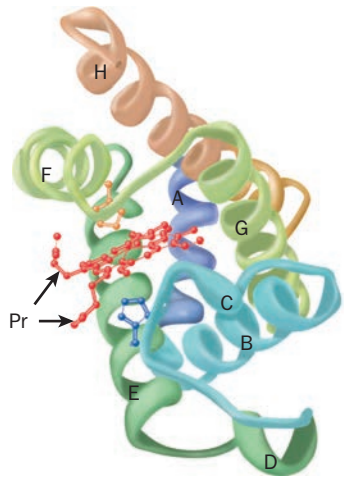


FIGURA 6-2 **Estructura tridimensional de la mioglobina.** Se muestra un diagrama helicoidal de la estructura polipeptídica de la mioglobina. El color de la cadena polipeptídica se gradúa a lo largo del espectro visible desde azul (N-terminal) a bronceado (C-terminal). El grupo prostético hemo es rojo. Las regiones alfahelicoidales se designan de la A a la H. Los residuos de histidina distal (E7) y proximal (F8) se resaltan en azul y naranja, respectivamente. Observe cómo los sustituyentes polares propionato (Pr) se proyectan fuera del hemo hacia el solvente. (Adaptada de Protein Data Bank ID nro. 1a6n.)

Las histidinas F8 y E7 desempeñan funciones únicas en la unión de oxígeno

El hemo de la mioglobina se encuentra en una hendidura entre las hélices E y F orientadas con sus grupos polares de propionato frente a la superficie de la globina (figura 6-2). El resto reside en el interior no polar. La quinta posición de coordinación del hierro está ocupada por un nitrógeno del anillo de imidazol de la **histidina proximal**, His F8. La **histidina distal**, His E7, se encuentra en el lado del anillo hemo opuesta a His F8.

El hierro se mueve hacia el plano del hemo cuando el oxígeno está unido

El hierro de la mioglobina no oxigenada se encuentra a 0.03 nm (0.3 Å) fuera del plano del anillo de hemo, hacia His F8. En consecuencia, el hemo se "frunce" ligeramente. Cuando el O_2 ocupa la sexta posición de coordinación, el hierro se mueve dentro de 0.01 nm (0.1 Å) dentro del plano del anillo de hemo. Por tanto, la oxigenación de la mioglobina está acompañada por el movimiento del hierro, de His F8 y de los residuos unidos a His F8.

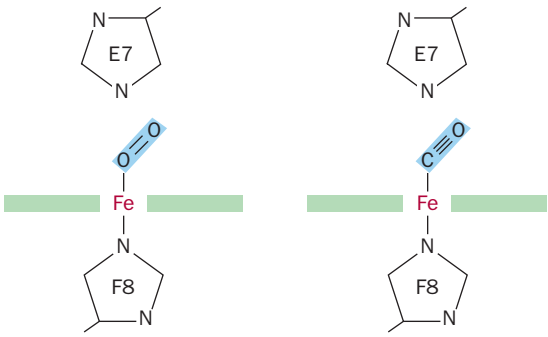


FIGURA 6-3 Ángulos para la unión de oxígeno y monóxido de carbono (CO) al hierro hemo de la mioglobina. La histidina E7 distal dificulta la unión de CO en el ángulo preferido (90°) al plano del anillo de hemo.

La apomioglobina proporciona un entorno obstaculizado para el hierro hemo

Cuando el O_2 se une a la mioglobina, el enlace que une al primero y segundo átomos de oxígeno se encuentra en un ángulo de 121° con respecto al plano del hemo, orientando al segundo oxígeno lejos de la histidina distal (**figura 6-3**, izquierda). Esto permite una superposición máxima entre el hierro y uno de los pares de electrones solitarios en los átomos de oxígeno hibridizados sp^2, que se encuentran en un ángulo de aproximadamente 120° con respecto al eje del doble enlace O═O (**figura 6-4**, izquierda), y protege al oxígeno de ser desplazado por CO. Cantidades mínimas de CO surgen de una variedad de fuentes biológicas, incluido el catabolismo de los glóbulos rojos en el cuerpo humano, así como a través de la combustión incompleta de los combustibles fósiles. El CO se une al hierro hemo 25 000 veces más fuertemente que el oxígeno. Entonces, ¿por qué el CO no desplaza de modo completo al O_2 del hierro hemo presente en la mioglobina y la hemoglobina? La explicación aceptada es que las apoproteínas de la mioglobina y la hemoglobina crean un **entorno obstaculizado** para sus ligandos gaseosos. Cuando el CO se une al hemo libre, los tres átomos (Fe, C y O) se encuentran **perpendiculares** al plano del hemo. Esta geometría maximiza la superposición entre el par de electrones solitario en el carbono hibridizado sp de la molécula de CO y el hierro

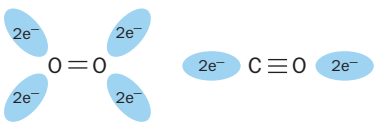


FIGURA 6-4 Orientación de los pares de electrones solitarios en relación con los enlaces O═O y C≡O del oxígeno y el monóxido de carbono. En el oxígeno molecular, la formación del doble enlace entre los dos átomos de oxígeno se ve facilitada por la adopción de un estado de hibridación sp^2 por el electrón de valencia de cada átomo de oxígeno. Como consecuencia, los dos átomos de la molécula de oxígeno y cada par de electrones solitarios son coplanares y separados por un ángulo de aproximadamente 120° (izquierda). Por el contrario, los dos átomos de monóxido de carbono están unidos por un enlace triple, que requiere que los átomos de carbono y oxígeno adopten un estado de hibridación sp. En este estado, los pares solitarios de electrones y enlaces triples están dispuestos de forma lineal, donde están separados por un ángulo de 180° (derecha).

Fe^{2+} (figura 6-4, derecha). Sin embargo, en la mioglobina y la hemoglobina, la histidina distal impide estéricamente esta orientación de alta afinidad preferida del CO, al mismo tiempo que permite que el O_2 consiga su orientación más favorable. La unión en un ángulo menos favorecido reduce la fuerza del enlace hemo-CO a aproximadamente 200 veces la del enlace hemo-O_2 (figura 6-3, derecha). Por tanto, el O_2, que está presente en gran exceso con respecto al CO, normalmente domina. Sin embargo, alrededor de 1% de la mioglobina humana está presente combinada con CO.

LAS CURVAS DE DISOCIACIÓN DE OXÍGENO PARA LA MIOGLOBINA Y HEMOGLOBINA PERMITEN SUS ROLES FISIOLÓGICOS

¿Por qué la mioglobina no es adecuada como proteína de transporte para el O_2, pero es adecuada para el almacenamiento de O_2? La relación entre la concentración o presión parcial de O_2 (P_{O_2}) y la cantidad de O_2 unido se expresa como una isoterma de saturación de O_2 (**figura 6-5**). La curva de unión al oxígeno para la mioglobina es hiperbólica. Por tanto, la mioglobina acepta O_2 fácilmente en la P_{O_2} del lecho capilar pulmonar (100 mm Hg). Sin embargo, dado que la mioglobina libera sólo una pequeña fracción de su O_2 ligado a los valores de P_{O_2} encontrados típicamente en el músculo activo (20 mm Hg) u otros tejidos (40 mm Hg), representa un vehículo ineficaz para la distribución de O_2. Sin embargo, cuando el ejercicio extenuante disminuye la P_{O_2} del tejido muscular a aproximadamente 5 mm Hg, la disociación de O_2 de la mioglobina permite la síntesis mitocondrial del ATP y, por tanto, logra que la actividad muscular continúe.

Por el contrario, la hemoglobina se comporta como si fueran dos proteínas. A una P_{O_2} alta, de 100 mm Hg y superior, muestra una alta afinidad por el oxígeno que le permite unir oxígeno a casi todos los hierros hemo disponibles en los pulmones. Esta forma de

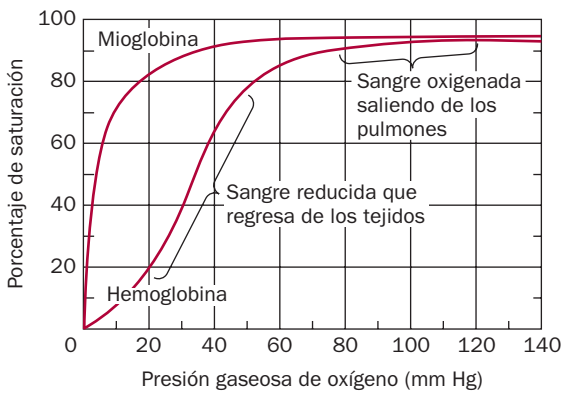


FIGURA 6-5 Curvas de unión al oxígeno de la hemoglobina y la mioglobina. La tensión de oxígeno arterial es de aproximadamente 100 mm Hg; la tensión del oxígeno venoso mixto es de alrededor de 40 mm Hg; la tensión de oxígeno capilar (músculo activo) es de aproximadamente 20 mm Hg, y la tensión de oxígeno mínima requerida para la citocromo oxidasa es de alrededor de 5 mm Hg. La asociación de cadenas en una estructura tetramérica (hemoglobina) da como resultado un suministro de oxígeno mucho mayor que el que sería posible con cadenas simples. (Modificada, con permiso, de Scriver CR, *et al.* (eds.). *Las bases moleculares y metabólicas de la enfermedad heredada*. 7th ed. McGraw-Hill; 1995.)

la proteína se conoce comúnmente como **R**, para hemoglobina de **estado relajado**.

A los valores mucho menores de P_{O_2} encontrados en los tejidos periféricos, 40 mm Hg e inferiores, la hemoglobina exhibe una afinidad aparente mucho menor por el oxígeno. La transición de la hemoglobina a este **estado** de baja afinidad, **tenso** o **T,** le permite liberar una gran proporción del oxígeno previamente recogido en los pulmones. Este intercambio dinámico entre el estado R y T sirve como base para la curva de unión sigmoidea de O_2 de la hemoglobina.

LAS PROPIEDADES ALOSTÉRICAS DE LAS HEMOGLOBINAS RESULTAN DE SUS ESTRUCTURAS CUATERNARIAS

Las propiedades de las hemoglobinas individuales son consecuencias de sus estructuras cuaternarias, secundarias y terciarias. La estructura cuaternaria de la hemoglobina confiere sorprendentes propiedades adicionales, ausentes en la mioglobina monomérica, que la adapta a sus funciones biológicas únicas. Las propiedades **alostéricas** (*Gr allos* "otro", *steros* "espacio") de la hemoglobina proporcionan, además, un modelo para comprender otras proteínas alostéricas (véase capítulo 17).

La hemoglobina es tetramérica

Las hemoglobinas son tetrámeros compuestos por pares de dos subunidades polipeptídicas diferentes (**figura 6-6**). Las letras griegas se usan para designar cada tipo de subunidad. La composición de subunidades de las principales hemoglobinas es $\alpha_2\beta_2$ (HbA, *normal adult hemoglobin*): hemoglobina adulta normal), $\alpha_2\gamma_2$ (HbF, *fetal hemoglobin*: hemoglobina fetal), $\alpha_2\beta^S{}_2$ (HbS, *sikle cell hemoglobin*: hemoglobina de células falciformes) y $\alpha_2\delta_2$ (HbA_2, *minor adult hemoglobin*: una hemoglobina adulta minoritaria). Las estructuras primarias de las cadenas β, γ y δ de la hemoglobina humana están altamente conservadas.

La mioglobina y las subunidades β de la hemoglobina comparten estructuras secundarias y terciarias casi idénticas

A pesar de las diferencias en el tipo y número de aminoácidos presentes, la mioglobina y el polipéptido β de la hemoglobina A comparten estructuras secundarias y terciarias casi idénticas. Las similitudes incluyen la ubicación del hemo y las regiones helicoidales, y la presencia de aminoácidos con propiedades similares en lugares comparables. Aunque posee siete regiones helicoidales en lugar de ocho, el polipéptido α de la hemoglobina también se parece mucho a la mioglobina.

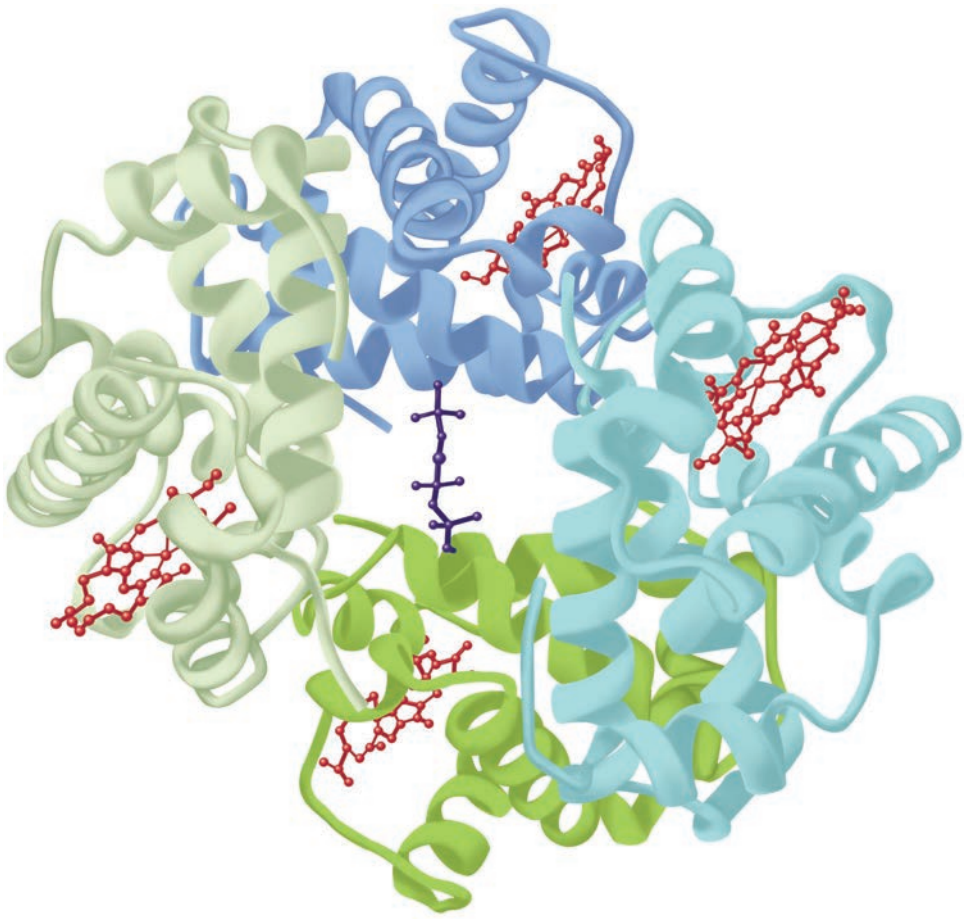


FIGURA 6-6 Hemoglobina. Se muestra la estructura tridimensional de la desoxihemoglobina con una molécula de 2,3-bisfosfoglicerato (azul oscuro) unida. Las dos subunidades α están coloreadas en los tonos más oscuros de verde y azul, las dos subunidades β en los tonos más claros de verde y azul, y los grupos prostéticos hemo en rojo. (Adaptada de Protein Data Bank ID núm. 1b86.)

La oxigenación de la hemoglobina desencadena cambios conformacionales en la apoproteína

Las hemoglobinas pueden unir hasta cuatro moléculas de O_2 por tetrámero, una por hemo. Además, la hemoglobina se unirá más fácilmente a una molécula de O_2 si otras moléculas de O_2 ya están unidas (figura 6-5). Conocida como **unión cooperativa**, este fenómeno permite que la hemoglobina maximice tanto la cantidad de O_2 cargado en la P_{O_2} de los pulmones como la cantidad de O_2 liberado en la P_{O_2} de los tejidos periféricos. Estas interacciones cooperativas, una propiedad exclusiva de ciertas proteínas *multiméricas*, son críticamente importantes para la vida aeróbica.

P_{50} expresa las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno

La cantidad P_{50}, una medida de la concentración de O_2, es la presión parcial de O_2 a la que una hemoglobina determinada alcanza la mitad de la saturación. Dependiendo del organismo, la P_{50} puede variar ampliamente, pero en todos los casos, excede la P_{O_2} normal de los tejidos periféricos. Por ejemplo, los valores de P_{50} para la HbA y la HbF son 26 y 20 mm Hg, respectivamente. En la placenta, esta diferencia permite que la HbF extraiga oxígeno de la HbA en la sangre de la madre. Sin embargo, la HbF es subóptima después del parto, ya que su mayor afinidad por el O_2 limita la cantidad de O_2 distribuida a los tejidos.

La composición de subunidades de los tetrámeros de hemoglobina experimenta cambios complejos durante el desarrollo. El feto humano inicialmente sintetiza un tetrámero $\xi_2\varepsilon_2$. Al final del primer trimestre, las subunidades ξ y ε han sido reemplazadas por las subunidades α y γ, formando la HbF ($\alpha_2\gamma_2$), la hemoglobina de la vida fetal tardía. Mientras que la síntesis de las subunidades β comienza en el tercer trimestre, el reemplazo de las subunidades γ por subunidades β para producir HbA adulta ($\alpha_2\beta_2$) en adultos no llega a completarse hasta varias semanas después del parto (**figura 6-7**).

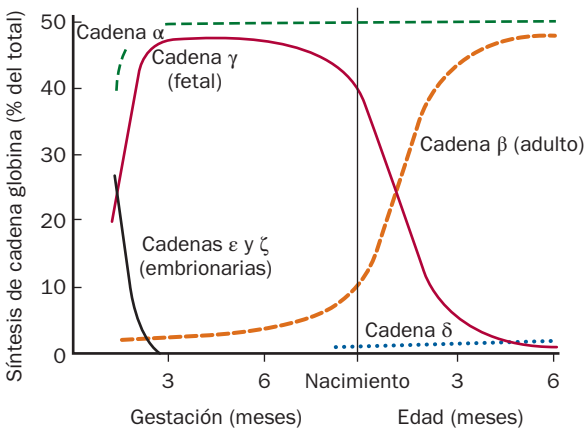


FIGURA 6-7 **Patrón de desarrollo de la estructura cuaternaria de las hemoglobinas fetales y neonatales.** (Reproducida, con permiso, de Ganong WF. *Review of Medical Physiology.* 20th ed. McGraw-Hill; 2001.)

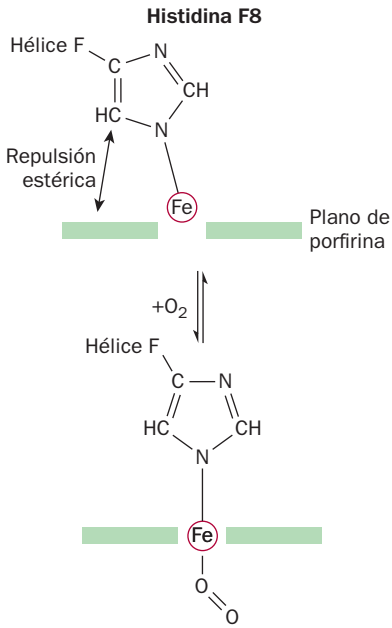


FIGURA 6-8 **En la oxigenación de la hemoglobina el átomo de hierro se mueve hacia el plano del hemo.** La histidina F8 y sus residuos de aminoácidos asociados son jalados junto con el átomo de hierro. Para una representación de este movimiento, véase http://www.rcsb.org/pdb/101/motm.do?momID=41

La oxigenación de la hemoglobina se acompaña de grandes cambios conformacionales

La unión de la primera molécula de O_2 a la desoxiHb desplaza el hierro hemo hacia el plano del anillo de hemo (**figura 6-8**). Este movimiento se transmite a través de la histidina proximal (F8) y los residuos unidos a la misma a todo el tetrámero, desencadenando la ruptura de los puentes de sal formados por los residuos carboxilo terminales de las cuatro subunidades. Como resultado, un par de subunidades α/β gira 15° con respecto al otro, compactando el tetrámero (**figura 6-9**). Los cambios profundos en las estructuras

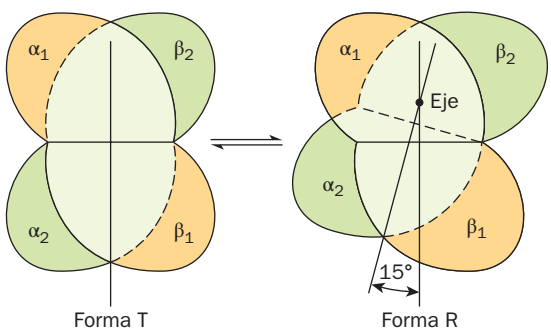


FIGURA 6-9 **Durante la transición de la forma T a la forma R de la hemoglobina, el par de subunidades $\alpha_2\beta_2$ (verde) gira a través de 15° con respecto al par de subunidades $\alpha_1\beta_1$ (amarillo).** El eje de rotación es excéntrico, y el par $\alpha_2\beta_2$ también se desplaza un poco hacia el eje. En la representación, el par tan $\alpha_1\beta_1$ se muestra fijo mientras que el par de subunidades $\alpha_2\beta_2$ verde se desplaza y gira.

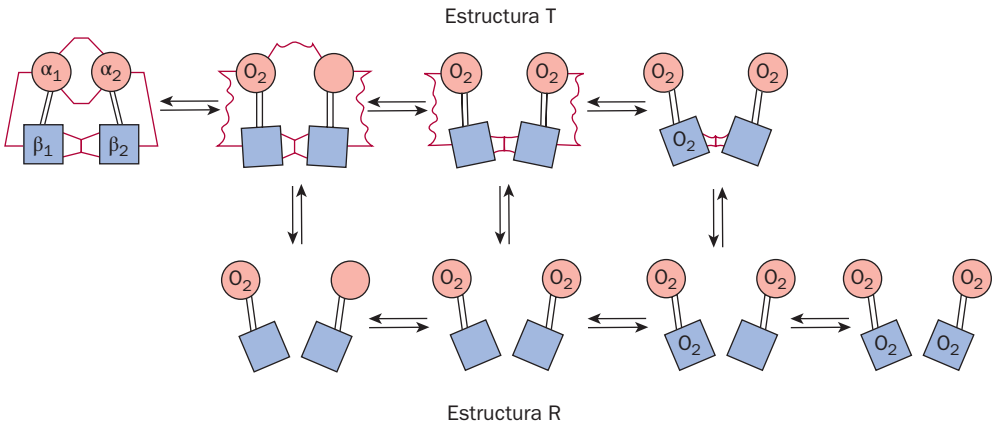


FIGURA 6-10 Transición de la estructura T a la estructura R. En este modelo, los puentes salinos (líneas rojas) que unen las subunidades en la estructura T se rompen progresivamente a medida que se agrega oxígeno, e incluso los puentes salinos que aún no se han roto se debilitan de modo progresivo (líneas rojas onduladas). La transición de T a R no tiene lugar después de que se haya fijado un número determinado de moléculas de oxígeno se hayan unido, pero se vuelve más probable a medida que se une cada oxígeno sucesivo. La transición entre las dos estructuras está influida por protones, dióxido de carbono, cloruro y 2,3-bisfosfoglicerato (BPG); cuanto mayor es su concentración, más oxígeno debe estar unido para desencadenar la transición. Las moléculas completamente oxigenadas en la estructura T y las moléculas completamente desoxigenadas en la estructura R no se muestran porque son inestables. (Modificada y vuelta a dibujar con permiso de Perutz MF. Estructura de la hemoglobina y transporte respiratorio. Sci Am [diciembre] 1978;239:92.)

secundarias, terciarias y cuaternarias acompañan la transición de hemoglobina inducida por O_2 del estado de baja afinidad T al estado R de alta afinidad. Estos cambios aumentan significativamente la afinidad de los grupos hemo no oxigenados restantes por el O_2, ya que los eventos de unión subsecuentes requieren la ruptura de menos puentes salinos (**figura 6-10**). Los términos T y R también se usan para referirse a las conformaciones de baja afinidad y alta afinidad de las enzimas alostéricas, respectivamente.

La hemoglobina ayuda en el transporte de CO_2 a los pulmones

Además de transportar O_2 desde los pulmones a los tejidos periféricos, los glóbulos rojos deben recoger el CO_2, el subproducto de la respiración, de los tejidos periféricos para su eliminación en los pulmones. Alrededor del 15% del CO_2 en sangre venosa es transportado por la hemoglobina como carbamatos formados con los nitrógenos amino terminales de las cadenas polipeptídicas:

$$CO_2 + Hb{-}NH_3^+ \rightleftharpoons 2H^+ + Hb{-}\overset{\displaystyle H}{\underset{}{N}}{-}\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}{-}O^-$$

La formación de carbamato cambia la carga en los extremos amino terminal de positiva a negativa, favoreciendo la formación del puente salino entre las cadenas α y β. El CO_2 restante se transporta principalmente en forma de bicarbonato, que se genera en los eritrocitos mediante la hidratación de CO_2 a ácido carbónico (H_2CO_3), un proceso catalizado por la anhidrasa carbónica. Al pH de la sangre venosa, el H_2CO_3 se disocia en bicarbonato y un protón.

$$CO_2 + H_2O \xrightleftharpoons{\text{Anhidrasa carbónica}} H_2CO_3 \xrightleftharpoons{\text{(Espontáneo)}} HCO_3^- + H^+$$

Ácido carbónico

La hemoglobina del estado T se une a dos protones por tetrámero. La unión de protones no sólo ayuda a amortiguar la acidificación de la sangre en la circulación periférica que resulta de la formación de ácido carbónico, sino que aumenta la cantidad de CO_2 absorbida por los glóbulos rojos al favorecer la conversión de CO_2 en ácido carbónico y, por tanto, a bicarbonato. El CO_2, a su vez, mejora la distribición de O_2 a los tejidos respiratorios al estabilizar el estado T induciendo la carbamación y disminuyendo el pH. En los pulmones, este proceso se revierte. Al unirse el O_2 con la desoxihemoglobina, la transición resultante al estado R desencadena la liberación de protones unidos y la ruptura de carbamatos, liberando CO_2. Los protones liberados se combinan con bicarbonato para formar ácido carbónico. El H_2CO_3 se deshidrata posteriormente, un proceso catalizado por la enzima anhidrasa carbónica, para formar CO_2, que se exhala (**figura 6-11**). Este acoplamiento de la interconversión de CO_2 y H_2CO_3 con la unión recíproca de protones y O_2 por la hemoglobina en los estados T y R, respectivamente, se denomina **efecto Bohr**.

Los protones surgen de la ruptura de los puentes salinos cuando el O_2 se une

El efecto Bohr depende de las interacciones cooperativas entre las subunidades, y sus grupos hemo asociados, del tetrámero de hemoglobina. En los pulmones, la presión parcial del oxígeno impulsa la conversión de la hemoglobina del estado T al estado R, rompiendo los puentes salinos que implican al residuo de la cadena β His 146. La posterior disociación de protones de His 146 conduce la conversión de bicarbonato a ácido carbónico (figura 6-11). En los tejidos respiratorios, la alta concentración de CO_2 impulsa la formación de ácido carbónico y la acidificación de los glóbulos rojos. Tras la liberación de O_2, la estructura T y sus puentes salinos se reforman. Este cambio conformacional aumenta el pK_a de los residuos de His 146 de la cadena β, que se unen a los protones. Al estabilizar la formación de hemoglobina en estado

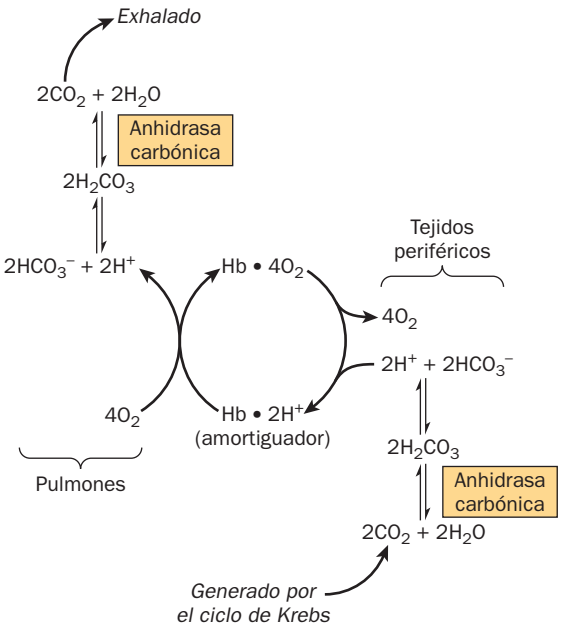


FIGURA 6-11 **El efecto Bohr.** El dióxido de carbono generado en los tejidos periféricos se combina con el agua para formar ácido carbónico, que se disocia en protones e iones de bicarbonato. La desoxihemoglobina actúa como un amortiguador uniendo protones y distribuyéndolos a los pulmones. En estos, la absorción de oxígeno por la hemoglobina libera protones que se combinan con el ion bicarbonato, formando ácido carbónico, que cuando se deshidrata por la anhidrasa carbónica se convierte en dióxido de carbono, que luego se exhala.

T, el aumento de la concentración de protones impulsado por el CO_2 mejora la liberación de O_2.

2,3-BPG estabiliza la estructura T de la hemoglobina

En los tejidos periféricos, la disminución del pH de los glóbulos rojos inducida por CO_2 promueve la síntesis de 2,3-BPG en los eritrocitos. Cuando la hemoglobina está en el estado T se forma una cavidad central en la interfaz de sus cuatro subunidades que pueden unir una molécula de BPG (figura 6-6), que forma puentes salinos con los grupos amino terminales de ambas cadenas β a través de Val NA1 y con Lys EF6 y His H21 (**figura 6-12**). Por tanto, el BPG estabiliza la hemoglobina desoxigenada (estado T) formando puentes salinos adicionales que deben romperse antes de la conversión al estado R.

La síntesis de BPG a partir del intermedio glucolítico 1,3-BPG está catalizada por la enzima bifuncional **2,3-bisfosfoglicerato sintasa/2-fosfatasa** (BPGM, *bisphosphoglycerate synthase/2-phosphatase*). El BPG se hidroliza a 3-fosfoglicerato por la actividad de la 2-fosfatasa de BPGM y a 2-fosfoglicerato por una segunda enzima, inositol polifosfato fosfatasa múltiple (MIPP, *multiple inositol polyphosphate phosphatase*). Las actividades de estas enzimas, y por tanto el nivel de BPG en los eritrocitos, son sensibles al pH. Como consecuencia, la unión de BPG refuerza el impacto de los protones derivados del ácido carbónico al desplazar el equilibrio R-T a favor del estado T, aumentando la cantidad de O_2 liberado en los tejidos periféricos.

En la hemoglobina fetal, el residuo H21 de la subunidad γ es Ser en lugar de His. Como Ser no puede formar un puente de sal,

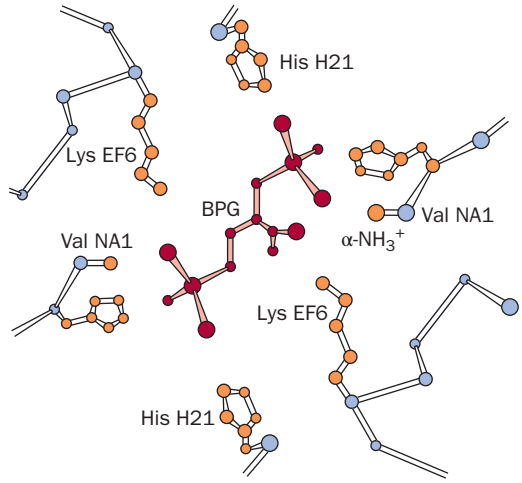


FIGURA 6-12 **Modo de unión del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) a la desoxihemoglobina humana.** El BPG interactúa con tres grupos con carga positiva en cada cadena β. (Basada en Arnone A. Estudio de difracción de rayos X de la unión del 2,3-difosfoglicerato a la desoxihemoglobina humana. Nature 1972;237:146. Copyright © 1972. Adaptada con autorización de Macmillan Publishers Ltd.)

el BPG se une más débilmente a la HbF que a la HbA. La estabilización más baja proporcionada al estado T por BPG constituye HbF que tiene una afinidad más alta por O_2 que HbA.

Adaptación a gran altitud

Los cambios fisiológicos que acompañan a la exposición prolongada a gran altitud incluyen aumentos en el número de eritrocitos, la concentración de hemoglobina dentro de ellos y la síntesis de BPG. El aumento de BPG disminuye la afinidad de HbA por el O_2 (aumenta P_{50}), lo que mejora la liberación de O_2 en los tejidos periféricos.

NUMEROSAS MUTACIONES QUE AFECTAN LAS HEMOGLOBINAS HUMANAS HAN SIDO IDENTIFICADAS

Las mutaciones en los genes que codifican las subunidades α o β de la hemoglobina pueden afectar potencialmente su función biológica. Sin embargo, casi todas las más de 1 100 mutaciones genéticas conocidas que afectan a las hemoglobinas humanas son raras y benignas, y no presentan anomalías clínicas. Cuando una mutación compromete la función biológica, la condición se denomina **hemoglobinopatía**. Se estima que más del 7% de la población mundial es portador de trastornos de la hemoglobina. La URL http:// globin.cse.psu.edu/ (*Globin Gene Server*) proporciona información sobre –y enlaces para– hemoglobinas normales y mutadas. Los ejemplos seleccionados se describen a continuación.

Metahemoglobina y hemoglobina M

En la metahemoglobinemia, el hierro hemo es férrico en lugar de ferroso, lo que hace que la metahemoglobina no pueda unirse o

transportar O_2. Normalmente, el Fe^{3+} de la metahemoglobina se devuelve al estado Fe^{2+} a través de la acción de la enzima metahemoglobina reductasa. Los niveles de metahemoglobina pueden aumentar a niveles fisiopatológicos significativos por varias causas: reducción de Fe^{2+} a Fe^{3+} como efecto secundario de agentes como sulfonamidas, reducciones en la actividad de la metahemoglobina reductasa o herencia del gen para una forma de hemoglobina alterada por mutaciones llamada HbM.

En la hemoglobina M, la histidina F8 (His F8) ha sido reemplazada por tirosina. El hierro de HbM forma un complejo iónico estrecho con el anión fenolato de la tirosina que estabiliza la forma Fe^{3+}. En las variantes de la hemoglobina M de la cadena α, el equilibrio R-T favorece el estado T. La afinidad del oxígeno se reduce y el efecto Bohr está ausente. Las variantes de la hemoglobina M de cadena β presentan una transposición R-T y, por tanto, el efecto Bohr está presente.

Las mutaciones que favorecen el estado R (p. ej., hemoglobina Chesapeake) aumentan la afinidad de O_2. Por tanto, estas hemoglobinas no liberan suficiente O_2 a los tejidos periféricos. La hipoxia tisular resultante conduce a **policitemia**, una mayor concentración de eritrocitos.

Hemoglobina S

En la HbS, el aminoácido no polar valina ha reemplazado al residuo polar de la superficie Glu6 de la subunidad β, generando un "**parche adhesivo**" hidrofóbico en la superficie de la subunidad β de ambos, oxiHbS y desoxiHbS. Tanto la HbA como la HbS contienen un parche adhesivo complementario en sus superficies que está expuesto sólo en el estado T desoxigenado. Por tanto, a baja P_{O_2}, la desoxiHbS puede polimerizarse para formar fibras largas e insolubles. La unión de desoxiHbA termina la polimerización de la fibra, ya que la HbA carece del segundo parche adhesivo necesario para unirse a otra molécula de Hb (**figura 6-13**). Estas fibras helicoidales retorcidas distorsionan el eritrocito en una forma característica de hoz, haciéndolo vulnerable a la lisis en los intersticios de los sinusoides esplénicos. También causan múltiples efectos secundarios clínicos. Una baja P_{O_2}, como en grandes altitudes, exacerba la tendencia a la polimerización. Los términos rasgo de células falciformes y enfermedad de células falciformes se refieren a personas en las que uno o ambos genes de la subunidad beta están mutados, respectivamente. Los tratamientos emergentes para la enfermedad de células falciformes incluyen la inducción de la expresión de HbF para inhibir la polimerización de la HbS, el trasplante de células madre y, en el futuro, la terapia génica.

IMPLICACIONES BIOMÉDICAS

Mioglobinuria

Después de una lesión masiva por aplastamiento del músculo esquelético seguida de daño renal, puede aparecer mioglobina en la orina. La mioglobina puede detectarse en el plasma después de un infarto al miocardio, pero el análisis de la troponina sérica, las isozimas de lactato deshidrogenasa o la creatina cinasa (véase capítulo 7) proporciona un índice más sensible de lesión miocárdica.

Anemias

Las anemias, disminución en el número de glóbulos rojos o de hemoglobina en la sangre, pueden reflejar una alteración de la síntesis de hemoglobina (p. ej., en la deficiencia de hierro, véase capítulo 53) o alteración de la producción de eritrocitos (p. ej., en la deficiencia del ácido fólico o de vitamina B_{12}; véase capítulo 44). El diagnóstico de anemias comienza con la medición espectroscópica de los niveles de hemoglobina en la sangre.

Talasemias

Los defectos genéticos conocidos como talasemias son el resultado de la ausencia parcial o total de una o más cadenas α o β de la hemoglobina. Se han identificado más de 750 mutaciones diferentes, pero sólo tres son comunes. Cualesquiera de las cadenas α (α-talasemias) o las β (β-talasemias) pueden verse afectadas. Un superíndice indica si una subunidad está completamente ausente (α^0 o β^0) o si su síntesis es reducida (α^- o β^-). Además del trasplante de médula, el tratamiento es sintomático.

Ciertas hemoglobinas mutadas son comunes en muchas poblaciones, y un paciente puede heredar más de un tipo. Los trastornos de la hemoglobina presentan así un patrón complejo de fenotipos clínicos. El uso de sondas de DNA para su diagnóstico se considera en el capítulo 39.

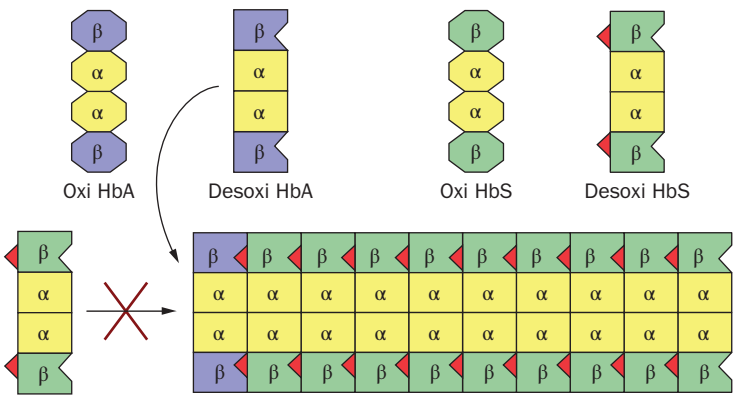


FIGURA 6-13 Polimerización de la desoxihemoglobina S. La disociación del oxígeno de la hemoglobina S (HbS) desenmascara un parche adhesivo (triángulo rojo) en la superficie de sus subunidades β (verde) que puede adherirse a un sitio complementario en las subunidades β de otras moléculas de desoxiHbS. La polimerización a un polímero fibroso se interrumpe en desoxiHbA, cuyas subunidades β (lavanda) carecen del parche adhesivo requerido para unirse a subunidades de HbS adicionales.

HEMOGLOBINA GLUCOSADA (HBA_{1C})

La glucosa en sangre que entra en los eritrocitos puede formar un aducto covalente con los grupos ε-amino de los residuos de lisina y las valinas N-terminales de las cadenas β de hemoglobina, un proceso denominado **glucación**. A glucosilación no enzimática, a diferencia de la glucosilación (véase capítulo 46), no es catalizada por enzimas. La fracción de hemoglobina glucosada, normalmente alrededor del 5%, es proporcional a la concentración de glucosa en sangre. Dado que la semivida de un eritrocito es típicamente de 60 días, el nivel de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) refleja la concentración media de glucosa en sangre durante las 6 a 8 semanas anteriores. Por tanto, la medición de la HbA1c proporciona información valiosa para el tratamiento de la diabetes mellitus.

RESUMEN

- La mioglobina es monomérica; la hemoglobina es un tetrámero de dos tipos de subunidades ($\alpha_2\beta_2$ en HbA). A pesar de tener diferentes estructuras primarias, la mioglobina y las subunidades de la hemoglobina tienen estructuras secundarias y terciarias casi idénticas.
- Hemo, un tetrapirrol cíclico esencialmente plano, un poco fruncido, tiene un Fe^{2+} central unido a los cuatro átomos de nitrógeno del hemo, a histidina F8 y, en oxiMb y oxiHb, también a O_2.
- La curva de unión a O_2 para la mioglobina es hiperbólica, pero para la hemoglobina es sigmoidal, una consecuencia de las interacciones cooperativas en el tetrámero.
- La cooperatividad surge de la capacidad de la hemoglobina de existir en dos estados conformacionales diferentes, un estado relajado o R en el que las cuatro subunidades exhiben una alta afinidad por el oxígeno y un estado tenso o T donde las cuatro subunidades presentan una baja afinidad por el oxígeno.
- Los altos niveles de O_2 en los pulmones conducen el equilibrio R-T a favor del estado R, mientras que la acidificación de los glóbulos rojos generados por la hidratación catalítica del CO_2 en los tejidos periféricos favorece el estado T. La cooperatividad maximiza así la capacidad de la hemoglobina tanto para cargar O_2 en la P_{O_2} de los pulmones como para distribuir O_2 en la P_{O_2} de los tejidos.
- Las afinidades relacionadas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno se expresan como P_{50}, la P_{O_2} que las satura al 50% con O_2. Las hemoglobinas se saturan a las presiones parciales de sus respectivos órganos respiratorios, por ejemplo, el pulmón o la placenta.
- En la oxigenación de la hemoglobina, el hierro y la histidina F8 se mueven hacia el anillo de hemo. Los cambios conformacionales resultantes en el tetrámero de hemoglobina incluyen la ruptura de enlaces salinos y el debilitamiento de la estructura cuaternaria que facilita la unión de O_2 adicional.
- El 2,3-BPG en la cavidad central de desoxiHb forma enlaces salinos con las subunidades β que estabilizan la hemoglobina del estado-T. En la oxigenación, la cavidad central se contrae al momento de la transición al estado R, el BPG se libera y la estructura cuaternaria se debilita.
- La hemoglobina ayuda en el transporte de CO_2 desde los tejidos periféricos hasta los pulmones mediante la formación de carbamatos y el **efecto Bohr**, una consecuencia de la unión de protones al estado T, pero no al estado R de la hemoglobina. La unión de protones mejora la conversión de CO_2 en ácido carbónico soluble en agua y bicarbonato. En los pulmones, la liberación de protones de la hemoglobina oxigenada del estado R favorece la conversión de bicarbonato y ácido carbónico en CO_2, que se exhala.
- En la hemoglobina de células falciformes (HbS), la Val reemplaza al Glu_6 de la subunidad β de HbA, creando un "parche adhesivo" que tiene un complemento en desoxiHb (pero no en oxiHb). La desoxiHbS polimeriza a bajas concentraciones de O_2, formando fibras que distorsionan los eritrocitos en forma de hoz.
- Las talasemias α y β son anemias que resultan de una producción reducida de subunidades α y β de HbA, respectivamente.

REFERENCIAS

Cho J, King JS, Qian X, *et al*. Dephosphorylation of 2,3-bisphosphoglycerate by MIPP expands the regulatory capacity of the Rapoport-Luebering glycolytic shunt. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:5998.

Lukin JA, Ho C. The structure–function relationship of hemoglobin in solution at atomic resolution. *Chem Rev* 2004;104:1219.

Ordway GA, Garry DJ. Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. *J Exp Biol* 2004;207:3441.

Papanikolaou E, Anagnou NP. Major challenges for gene therapy of thalassemia and sickle cell dsease. *Curr Gene Ther* 2010;10:404.

Piel FB. The present and future global burden of the inherited disorders of hemoglobin. *Hematol Oncol Clin North Am* 2016;30:327.

Schrier SL, Angelucci E. New strategies in the treatment of the thalassemias. *Annu Rev Med* 2005;56:157.

Steinberg MH, Brugnara C. Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle-cell disease. *Annu Rev Med* 2003;54:89.

Umbreit J. Methemoglobin—it's not just blue: a concise review. *Am J Hematol* 2007;82:134.

Weatherall DJ, Akinyanju O, Fucharoen S, *et al*. Inherited disorders of hemoglobin. In: Jamison DT, Breman JG, Measham AR (eds.). *Disease Control Priorities in Developing Countries*. Oxford University Press and the World Bank; 2006. p. 663-680.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, *et al*. The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Sly WS, Childs B, *et al* (eds.). *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 8th ed. McGraw-Hill; 2000. p. 4571.

Yuan Y, Tam MF, Simplaceanu V, Ho C. New look at hemoglobin allostery. *Chem Rev* 2015;115:1702.

CAPÍTULO 7

Enzimas: mecanismo de acción

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las relaciones estructurales entre las vitaminas B específicas y ciertas coenzimas.
- Resumir los cuatro mecanismos catalíticos principales y cómo pueden combinarse mediante enzimas para facilitar las reacciones químicas.
- Explicar el concepto de "ajuste inducido" y cómo facilita la catálisis.
- Resumir los principios subyacentes de los inmunoensayos ligados a enzimas.
- Describir cómo el acoplamiento de una enzima a la actividad de una deshidrogenasa puede simplificar muchos ensayos enzimáticos.
- Identificar las proteínas cuyos niveles plasmáticos se utilizan para el diagnóstico y el pronóstico.
- Describir la aplicación de endonucleasas de restricción y de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción en la detección de enfermedades genéticas.
- Ilustrar la utilidad de la mutagénesis dirigida al sitio para la identificación de residuos de aminoacilo que están implicados en el reconocimiento de sustratos o efectores alostéricos, o en el mecanismo de catálisis.
- Describir cómo las "etiquetas de afinidad" pueden facilitar la purificación de una proteína expresada a partir de su gen clonado.
- Indicar la función de proteasas específicas en la purificación de las enzimas etiquetadas por afinidad.
- Discutir los eventos que condujeron al descubrimiento de que los RNA pueden actuar como enzimas y describir brevemente el concepto evolutivo de un "mundo RNA".

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las enzimas, que catalizan las reacciones químicas que hacen posible la vida en la Tierra, participan en la descomposición de los nutrientes para suministrar energía y componentes químicos, lograr el ensamblaje de esos bloques en proteínas, DNA, membranas, células y tejidos, y posibilitar el aprovechamiento de la energía para potenciar la motilidad celular, la función neuronal y la contracción muscular. Casi todas las enzimas son proteínas. Excepciones notables incluyen RNA ribosomales y un puñado de moléculas de RNA imbuidas con actividad de endonucleasa o nucleótido ligasa conocidas colectivamente como ribozimas. La capacidad de detectar y cuantificar la actividad de enzimas específicas en sangre, otros fluidos tisulares o extractos celulares proporciona información que complementa la capacidad del médico para diagnosticar varias enfermedades. Muchas condiciones patológicas son consecuencia directa de cambios en la cantidad o en la actividad catalítica de enzimas claves que resultan de defectos genéticos, déficits nutricionales, daño tisular, toxinas o infección por patógenos virales o bacterianos (p. ej., *Vibrio cholerae*).

Además de servir como catalizadores para todos los procesos metabólicos, la impresionante actividad catalítica, la especificidad del sustrato y la estereoespecificidad de las enzimas les permiten cumplir funciones únicas en la salud y el bienestar humanos. La proteasa renina, por ejemplo, se utiliza en la producción de quesos, mientras que la lactasa se emplea para eliminar lactosa de la leche para beneficiar a los individuos intolerantes a la lactosa. Las proteasas y amilasas aumentan la capacidad de los detergentes para eliminar la suciedad y las manchas, mientras que otras enzimas pueden participar en la síntesis estereoespecífica de fármacos complejos o antibióticos.

LAS ENZIMAS SON CATALIZADORES ALTAMENTE ESPECÍFICOS Y EFECTIVOS

Las enzimas que catalizan la conversión de uno o más compuestos (**sustratos**) en uno o más compuestos diferentes (**productos**) generalmente aumentan las velocidades de la reacción no catalizada correspondiente por factores de 10^6 o más. Las enzimas pueden sufrir modificación transitoria durante la catálisis, pero no se consumen ni se alteran *permanentemente*. Además de ser muy eficientes, las enzimas también son en extremo *selectivas*. A diferencia de la mayoría de los catalizadores utilizados en la química sintética, las enzimas son específicas no sólo para el tipo de reacción catalizada, sino también para un único sustrato o un pequeño conjunto de sustratos muy relacionados. La mayoría de las enzimas son catalizadores *estereoespecíficos* que típicamente actúan sobre un solo estereoisómero de un compuesto dado, por ejemplo, D- pero no L-azúcares, L- pero no D-aminoácidos. Dado que unen los sustratos a través de al menos "tres puntos de unión", las enzimas también pueden producir productos quirales a partir de sustratos no quirales. La **figura 7-1** ilustra por qué la reducción catalizada por enzimas del piruvato de sustrato no quiral produce exclusivamente L-lactato, no una mezcla racémica de D- y L-lactato. La precisa especificidad de los catalizadores enzimáticos imbuye a las células vivas con la capacidad de conducir y controlar de forma simultánea e independiente un amplio espectro de procesos bioquímicos.

LAS ENZIMAS ESTÁN CLASIFICADAS POR TIPO DE REACCIÓN

Algunos de los nombres de las enzimas descritas por primera vez en los primeros días de la bioquímica persisten en uso hasta el día de hoy. Los ejemplos incluyen pepsina, tripsina y amilasa. Los primeros bioquímicos generalmente llamaban a las enzimas recién descubiertas añadiendo el sufijo *-asa* a un descriptor para el tipo de reacción catalizada. Por ejemplo, las enzimas que eliminan los elementos de hidrógeno, H_2 o H^- más H^+ generalmente se denominan deshidrogen*asas*, las enzimas que hidrolizan proteínas se conocen como prote*asas* y las enzimas que catalizan reordenamientos en la configuración se denominan isomer*asas*. En muchos casos, estos descriptores generales se complementaron con términos que indican el sustrato particular en el que actúa la enzima (*xantina* oxidasa), su fuente (ribonucleasa *pancreática*), su modo de regulación (lipasa *sensible a hormonas*) o un rasgo característico de su mecanismo de acción (*cisteína* proteasa). Donde sea necesario pueden agregarse designadores alfanuméricos para identificar múltiples formas, o isozimas, de una enzima (p. ej., RNA polimerasa *III*, proteína cinasa Cβ).

A medida que se descubrieron más enzimas, estas convenciones de nomenclatura temprana se convirtieron cada vez más en la designación inadvertida de algunas enzimas por múltiples nombres o la asignación de nombres duplicados a enzimas que exhiben capacidades catalíticas similares. Para abordar estos problemas, la Unión Internacional de Bioquímica (IUB, *International Union of Biochemistry*) desarrolló un sistema de nomenclatura enzimática en el que cada enzima tiene un nombre único y un número de código que identifica el tipo de reacción catalizada y los sustratos involucrados. Las enzimas se agrupan en las siguientes seis clases:

1. **Oxidorreductasas:** enzimas que catalizan oxidaciones y reducciones.
2. **Transferasas:** enzimas que catalizan la transferencia de restos, tales como grupos glucosilo, metilo o fosforilo.
3. **Hidrolasas:** enzimas que catalizan la escisión *hidrolítica* de C—C, C—O, C—N y otros enlaces covalentes.
4. **Liasas:** enzimas que catalizan la escisión de C—C, C—O, C—N y otros enlaces covalentes por *eliminación de átomos*, generando dobles enlaces.
5. **Isomerasas:** enzimas que catalizan cambios geométricos o estructurales *dentro* de una molécula.
6. **Ligasas:** enzimas que catalizan la unión (ligadura) de dos moléculas en reacciones acopladas a la hidrólisis del ATP.

El nombre IUB de hexocinasa es ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa E.C. 2.7.1.1. Este nombre identifica la hexocinasa como miembro de clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferencia de un grupo fosforilo), subclase 1 (alcohol es el aceptor de fosforilo) y "hexosa-6" indica que el alcohol fosforilado está en carbono seis de una hexosa. Si bien los números EC han demostrado ser particularmente útiles para diferenciar enzimas con funciones similares o actividades catalíticas similares, los nombres IUB tienden a ser largos y engorrosos. En consecuencia, la hexocinasa y muchas otras enzimas comúnmente son referidas usando sus nombres tradicionales, aunque a veces ambiguos.

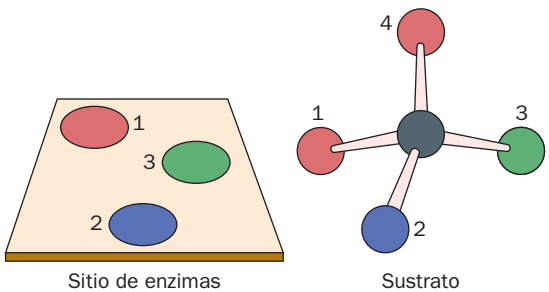


FIGURA 7-1 Representación plana de "los tres puntos de unión" de un sustrato al sitio activo de una enzima. Aunque los átomos 1 y 4 son idénticos, una vez que los átomos 2 y 3 están unidos a sus sitios complementarios en la enzima, sólo el átomo 1 puede unirse. Una vez unidos a una enzima, los átomos aparentemente idénticos pueden ser distinguibles, lo que permite un cambio químico estereoespecífico.

GRUPOS PROSTÉTICOS, COFACTORES Y COENZIMAS JUEGAN IMPORTANTES FUNCIONES EN LA CATÁLISIS

Muchas enzimas contienen moléculas pequeñas o iones metálicos que participan directamente en la unión del sustrato o en la catálisis. Los **grupos prostéticos** denominados, **cofactores** y **coenzimas,** amplían el repertorio de capacidades catalíticas más allá de las pro-

porcionadas por los grupos funcionales presentes en las cadenas laterales de aminoacilo de los péptidos.

Grupos prostéticos

Los grupos prostéticos se incorporan de manera firme y estable en la estructura de una proteína mediante fuerzas covalentes o no covalentes. Los ejemplos incluyen fosfato de piridoxal, mononucleótido de flavina (FMN, *flavin mononucleotide*), dinucleótido de flavina adenina (FAD, *flavin adenine dinucleotide*), pirofosfato de tiamina, ácido lipoico, biotina y metales de transición tales como Fe, Co, Cu, Mg, Mn y Zn. Los iones metálicos que participan en reacciones redox generalmente se unen como complejos organometálicos, como los grupos prostéticos hemo o los de hierro-azufre (véase capítulo 10). Los metales también pueden facilitar la unión y orientación de los sustratos, la formación de enlaces covalentes con los intermedios de reacción (Co^{2+} en la coenzima B_{12}, véase capítulo 44) o actuando como ácidos o bases de Lewis para hacer sustratos más **electrofílicos** (pobres en electrones) o **nucleofílicos** (rico en electrones), y por tanto más reactivo (véase capítulo 10).

Cofactores asociados reversiblemente con enzimas o sustratos

Los **cofactores** tienen funciones similares a las de los grupos prostéticos. La principal diferencia entre los dos es operacional, no química. Los cofactores se unen débil y transitoriamente a sus enzimas o sustratos afines, formando complejos disociables. Por tanto, a diferencia de los grupos prostéticos asociados, los cofactores deben estar presentes en el ambiente circundante para promover la formación de complejos, a fin de que ocurra la catálisis. Los cofactores más comunes también son iones metálicos. Las enzimas que requieren un cofactor de ion metálico se denominan **enzimas activadas por metal** para distinguirlas de las **metaloenzimas**, para las cuales los iones metálicos unidos sirven como grupos prostéticos.

Muchas coenzimas, cofactores y grupos prostéticos son derivados de las vitaminas B

Las vitaminas B solubles en agua suministran componentes importantes de numerosas coenzimas. La **nicotinamida** es un componente de las coenzimas redox NAD y NADP (**figura 7-2**); la **riboflavina** es un componente de las coenzimas redox FMN y FAD; el ácido pantoténico es un componente de la **coenzima A** del portador del grupo acilo. Como su pirofosfato, la **tiamina** participa en la descarboxilación de los alfacetoácidos mientras que las coenzimas de ácido fólico y cobamida funcionan en el metabolismo de un carbono. Además, varias coenzimas contienen los restos adenina, ribosa y fosforilo de AMP o ADP (figura 7-2).

Las coenzimas sirven como transbordadores de sustrato

Las **coenzimas** sirven como medios reciclables que transportan muchos sustratos desde un punto dentro de la célula a otro. La función de estos transbordadores es doble. En primer lugar, estabilizan especies como los átomos de hidrógeno ($FADH_2$) o los iones

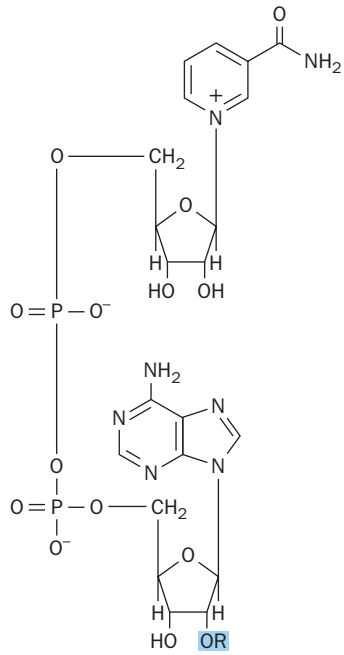


FIGURA 7-2 Estructura de NAD^+ y $NADP^+$. Para NAD^+, OR = —OH. Para $NADP^+$, —OR = $—OPO_3^{2-}$.

de hidruro (NADH) que son demasiado reactivos para persistir durante un tiempo significativo en presencia del agua, el oxígeno o las moléculas orgánicas que impregnan las células. En segundo lugar, aumentan el número de puntos de contacto entre el sustrato y la enzima, lo que aumenta la afinidad y especificidad con la que los grupos químicos pequeños como el acetato (coenzima A), glucosa (UDP) o hidruro (NAD^+) están unidos por sus enzimas blancos. Otros restos químicos transportados por coenzimas incluyen grupos metilo (folatos) y oligosacáridos (dolicol).

LA CATÁLISIS OCURRE EN EL SITIO ACTIVO

Una idea importante de principios del siglo XX sobre la catálisis enzimática surgió de la observación de que la presencia de sustratos hace que las enzimas sean más resistentes a los efectos desnaturalizantes de una temperatura elevada. Esta observación llevó a Emil Fischer a proponer que las enzimas y sus sustratos interactúan para formar un complejo enzima-sustrato (ES, *enzyme-substrate*) cuya estabilidad térmica es mayor que la de la propia enzima. Esta idea influyó profundamente en nuestra comprensión tanto de la naturaleza química como del comportamiento cinético de la catálisis enzimática.

Fischer razonó que la especificidad en extremo alta con la que las enzimas discriminan sus sustratos cuando se forma un complejo ES era análoga a la manera en que una cerradura distingue la llave adecuada. La analogía de las enzimas es que "la cerradura" está formada por una hendidura o bolsa en la superficie de la enzima llamada **sitio activo** (véanse figuras 5-6 y 5-8). Como implica el adjetivo "activo", el sitio activo es mucho más que simplemente un sitio de reconocimiento para sustratos vinculantes; proporciona el entorno en el que tiene lugar la transformación química.

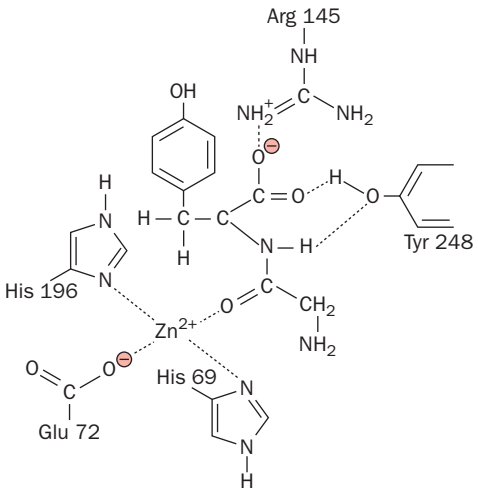


FIGURA 7-3 **Representación bidimensional de un sustrato dipeptídico, glicil-tirosina, unido dentro del sitio activo de la carboxipeptidasa A.**

Dentro del sitio activo, los sustratos se acercan entre sí en una alineación óptima con los cofactores, grupos prostéticos y cadenas laterales de aminoacilo que participan en la catalización de la transformación de sustratos en productos (**figura 7-3**). La catálisis es mejorada por la capacidad del sitio activo para proteger los sustratos del agua y genera un ambiente cuya polaridad, hidrofobicidad, acidez o alcalinidad pueden diferir de modo notable de la del citoplasma circundante.

LAS ENZIMAS EMPLEAN MÚLTIPLES MECANISMOS PARA FACILITAR LA CATÁLISIS

Las enzimas usan combinaciones de cuatro mecanismos generales para lograr mejoras dramáticas de las tasas de reacciones químicas.

Catálisis por proximidad

Para que las moléculas interactúen, deben estar dentro de la distancia de formación de enlaces entre sí. Cuanto mayor sea su concentración, más frecuentemente se encontrarán entre sí, y mayor será la velocidad a la que reaccionan. Cuando una enzima se une a moléculas de sustrato en su sitio activo, crea una región de alta concentración de sustrato local en la que las moléculas de sustrato se orientan en una posición ideal para que interactúen químicamente. Esto da como resultado mejoras de velocidad de al menos mil veces sobre la misma reacción no catalizada por enzimas.

Catálisis ácido-base

Además de contribuir a la capacidad del sitio activo para unir sustratos, los grupos funcionales ionizables de las cadenas laterales de aminoacilo y, cuando están presentes, de grupos prostéticos, pueden contribuir a la catálisis actuando como ácidos o bases. Distinguimos dos tipos de catálisis ácido-base. La **catálisis específica de ácido o base** se refiere a reacciones para las cuales los únicos ácidos o bases que *participan* son protones o iones de hidróxido. Por tanto, la velocidad de reacción es sensible a los cambios en la concentración de protones o iones hidróxido, pero es *independiente* de las concentraciones de otros ácidos (donantes de protones) o bases (receptores de protones) presentes en la solución o en el sitio activo. Se dice que las reacciones cuyas velocidades responden a *todos* los ácidos o bases presentes están sometidas a **catálisis ácida general** o a **catálisis básica general**.

Catálisis por tensión

Para la catálisis de las reacciones líticas, que implica romper un enlace covalente, las enzimas normalmente se unen a sus sustratos en una conformación que debilita el enlace dirigido a la escisión a través de la distorsión física y la polarización electrónica. Esta conformación tensada imita a la del **estado intermedio de transición**, una especie transitoria que representa el punto intermedio en la transformación de sustratos a productos. El Premio Nobel Linus Pauling fue el primero en sugerir un rol para la **estabilización del estado de transición** como un mecanismo general mediante el cual las enzimas aceleran las velocidades de las reacciones químicas. El conocimiento del estado de transición de una reacción catalizada por enzimas es explotado frecuentemente por los químicos para diseñar y sintetizar inhibidores de enzimas más efectivos, llamados **análogos de estado de transición**, como farmacóforos potenciales.

Catálisis covalente

El proceso de **catálisis covalente** implica la formación de un enlace covalente entre la enzima y uno o más sustratos. **La enzima modificada se convierte así en un reactivo**. La catálisis covalente proporciona una nueva vía de reacción cuya energía de activación es más baja (y la velocidad de reacción es, por tanto, más rápida) que las vías disponibles en una solución homogénea. El estado químicamente modificado de la enzima es, sin embargo, transitorio. La finalización de la reacción devuelve la enzima a su estado original no modificado. Por tanto, su papel sigue siendo catalítico. La catálisis covalente es particularmente común entre las enzimas que catalizan **reacciones de transferencia grupales.** Los residuos de la enzima que participan en la catálisis covalente por lo general son cisteína o serina, y en ocasiones histidina. La catálisis covalente a menudo sigue un mecanismo de "ping-pong": uno en el que el primer sustrato se une y su producto se libera antes de la unión del segundo sustrato (**figura 7-4**).

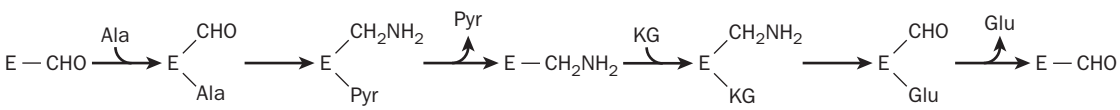


FIGURA 7-4 **Mecanismo de "ping-pong" para la transaminación.** E—CHO y E—CH_2NH_2 representan los complejos enzima-piridoxal fosfato y enzima-piridoxamina, respectivamente. [Ala (*alanine*): alanina; Glu (*glutamate*): glutamato; KG (α-*ketoglutarate*): alfacetoglutarato; Pyr (*pyruvate*): piruvato.]

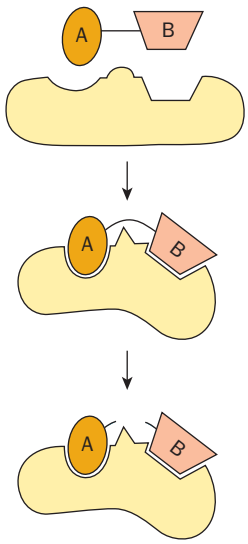


FIGURA 7-5 Representación bidimensional del modelo de ajuste inducido de Koshland del sitio activo de una liasa. La unión del sustrato A—B induce cambios conformacionales en la enzima que alinean los residuos catalíticos que participan en la catálisis y tensan el enlace entre A y B, facilitando su escisión.

LOS SUSTRATOS INDUCEN CAMBIOS CONFORMACIONALES EN LAS ENZIMAS

Si bien el "modelo de cerradura y llave" de Fischer explicaba la exquisita especificidad de las interacciones enzima-sustrato, la rigidez implícita del sitio activo de la enzima no podía explicar los cambios dinámicos que acompañan a las transformaciones catalíticas. Este inconveniente fue abordado por el **modelo de ajuste inducido** de Daniel Koshland, que establece que a medida que los sustratos se unen a una enzima, inducen un cambio conformacional que es análogo a colocar una mano (sustrato) en un guante (enzima) (**figura 7-5**). La enzima a su vez induce cambios recíprocos en sus sustratos, aprovechando la energía de unión para facilitar la transformación de sustratos en productos. El modelo de ajuste inducido ha sido ampliamente confirmado por estudios biofísicos del movimiento enzimático durante la unión del sustrato.

LA PROTEASA DEL VIH ILUSTRA LA CATÁLISIS ÁCIDO-BASE

Las enzimas de la **familia de las proteasas aspárticas**, que incluyen la enzima digestiva pepsina, las catepsinas lisosómicas y la proteasa producida por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV, *human immunodeficiency virus*), comparten un mecanismo común que emplea dos residuos de aspartilo conservados como catalizadores ácido-base. En la primera etapa de la reacción, un aspartato funciona como una base general (Asp X, **figura 7-6**) que extrae un protón de una molécula de agua para hacerlo más nucleofílico. El nucleófilo resultante luego ataca el carbono carbonílico electrófilo del enlace peptídico dirigido a la hidrólisis, formando un intermedio de **estado de transición tetraédrico**. Un segundo aspartato (Asp Y, figura 7-6) facilita luego la descomposición de este intermedio

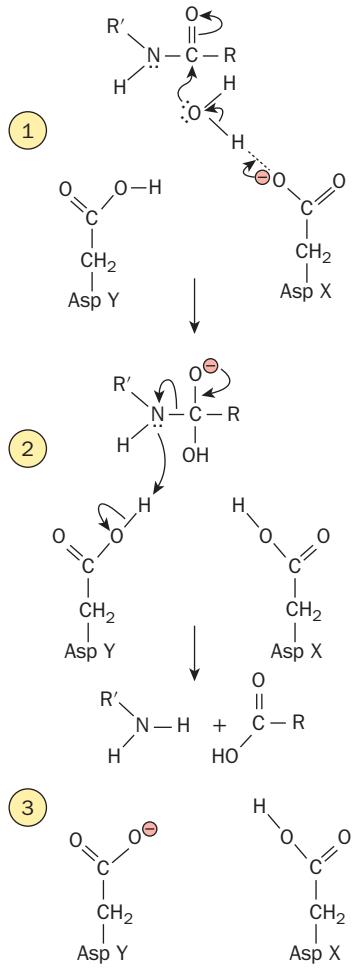


FIGURA 7-6 Mecanismo de catálisis por una proteasa aspártica como la proteasa del VIH. Las flechas curvas indican las direcciones del movimiento del electrón. ① El aspartato X actúa como una base para activar una molécula de agua mediante la abstracción de un protón. ② La molécula de agua activada ataca el enlace peptídico, formando un intermediario tetraédrico transitorio. ③ El aspartato Y actúa como un ácido para facilitar la descomposición del intermedio tetraédrico y la liberación de los productos fraccionados mediante la donación de un protón al grupo amino recién formado. El desplazamiento posterior del protón en Asp X a Asp Y restaura la proteasa a su estado inicial.

tetraédrico donando un protón al grupo amino producido por la ruptura del enlace peptídico. Los dos aspartatos del sitio activo pueden actuar simultáneamente como una base general o como un ácido general porque su entorno inmediato favorece la ionización de uno, pero no del otro.

LA QUIMOTRIPSINA Y LA FRUCTOSA-2,6-BISFOSFATASA ILUSTRAN LA CATÁLISIS COVALENTE

Quimotripsina

Mientras que la catálisis por proteasas aspárticas implica el ataque hidrolítico directo de agua sobre un enlace peptídico, la catálisis

por la **serina proteasa** quimotripsina implica la formación de un intermediario covalente de acilo-enzima. Un residuo de seril conservado, serina 195, se activa a través de interacciones con histidina 57 y aspartato 102. Si bien estos tres residuos están muy separados en la estructura primaria, en el sitio activo de la proteína madura plegada residen dentro de la distancia de formación de enlaces entre sí. Alineado en el orden Asp 102-His 57-Ser 195, este trío forma una **red enlazada de carga** que actúa como **"transbordador de protones"**.

La unión del sustrato inicia desplazamientos de protones que en efecto transfieren el protón hidroxilo de Ser 195 a Asp 102 (**figura 7-7**). La nucleofilicidad mejorada del oxígeno serílico facilita su ataque sobre el carbono carbonílico del enlace peptídico del sustrato, formando un **intermediario de acilo-enzima** covalente. El protón en Asp 102 luego lanza a través de His 57 al grupo amino liberado cuando se escinde el enlace peptídico. La porción del péptido original con un grupo amino luego libre abandona el sitio activo y se reemplaza por una molécula de agua. La red reguladora de carga ahora activa la molécula de agua al retirar un protón a través de His 57 a Asp 102. El ion hidróxido resultante ataca el intermediario de acilo-enzima, y un transbordador inverso de protones devuelve un protón a Ser 195, restaurando su estado original. Si bien se modifica durante el proceso de catálisis, la quimotripsina emerge sin cambios al finalizar la reacción. Las proteasas tripsina y elastasa emplean un mecanismo catalítico similar, pero la numeración de los residuos en sus transbordadores de protones Ser-His-Asp difiere.

Fructosa-2,6-bisfosfatasa

La fructosa-2,6-bisfosfatasa, una enzima reguladora de la gluconeogénesis (véase capítulo 19), cataliza la liberación hidrolítica del fosfato en el carbono 2 de la fructosa-2,6-bisfosfato. La **figura 7-8** ilustra los roles de siete residuos de sitios activos. La catálisis implica una "tríada catalítica" que consiste en un Glu y dos residuos de His, de los cuales un His forma un intermediario fosfohistidilo covalente.

LOS RESIDUOS CATALÍTICOS SON ALTAMENTE CONSERVADOS

Los miembros de una familia de enzimas tales como las proteasas aspárticas o de serina emplean un mecanismo similar para catalizar un tipo de reacción común, pero actúan sobre diferentes sustratos. La mayoría de las familias de enzimas parecen haber surgido a través de eventos de duplicación de genes que crearon una segunda copia del gen que codifica una enzima particular. Los dos genes, y en consecuencia sus proteínas codificadas, pueden evolucionar de forma independiente, formando **homólogos** divergentes que reconocen diferentes sustratos. El resultado se ilustra mediante la quimotripsina, que escinde los enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de los aminoácidos hidrófobos grandes, y la tripsina, que corta los enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de los aminoácidos básicos. Se dice que las proteínas que se derivaron de un ancestro común son **homólogas** entre sí. El ancestro común de las enzimas se puede deducir de la presencia de aminoácidos específicos en la misma posición relativa en cada miembro de la familia. Se dice que estos residuos están **evolutivamente conservados**.

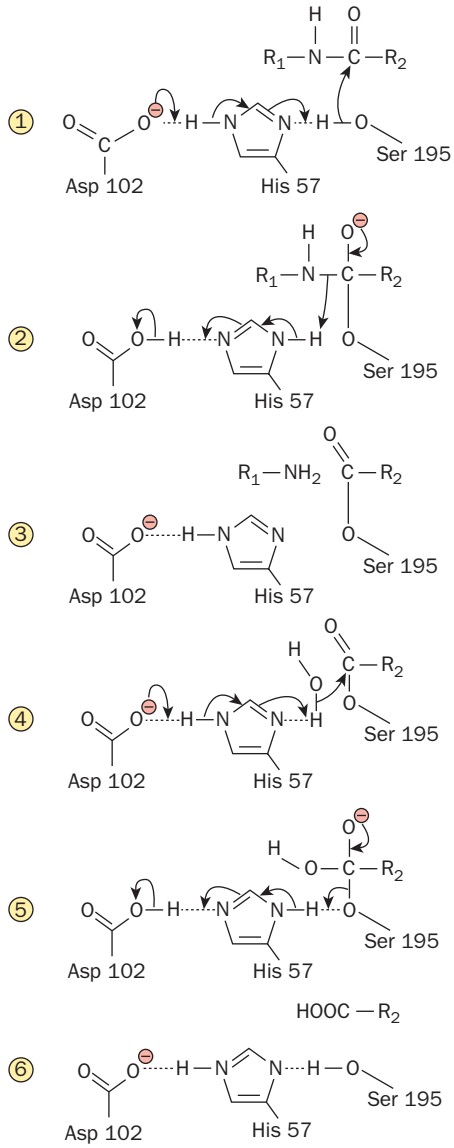


FIGURA 7-7 Catálisis por quimotripsina. ① El sistema regulador de carga elimina un protón de Ser 195, lo que lo convierte en un nucleófilo más fuerte. ② El Ser 195 activado ataca el enlace peptídico, formando un intermediario tetraédrico transitorio. ③ La liberación de péptido del amino terminal se ve facilitada por la donación de un protón al grupo amino recién formado por His 57 del sistema de carga y retransmisión, produciendo un intermediario acilo-Ser 195. ④ El His 57 y el Asp 102 colaboran para activar una molécula de agua, que ataca al acilo-Ser 195, formando un segundo intermedio tetraédrico. ⑤ El sistema de regulación de carga dona un protón a Ser 195, lo que facilita la descomposición del intermedio tetraédrico para liberar el péptido carboxilo terminal ⑥.

LAS ISOZIMAS SON FORMAS DE ENZIMAS DISTINTAS QUE CATALIZAN LA MISMA REACCIÓN

Los organismos superiores a menudo elaboran varias versiones físicamente distintas de una enzima determinada, cada una de las cuales cataliza la misma reacción. Al igual que los miembros de

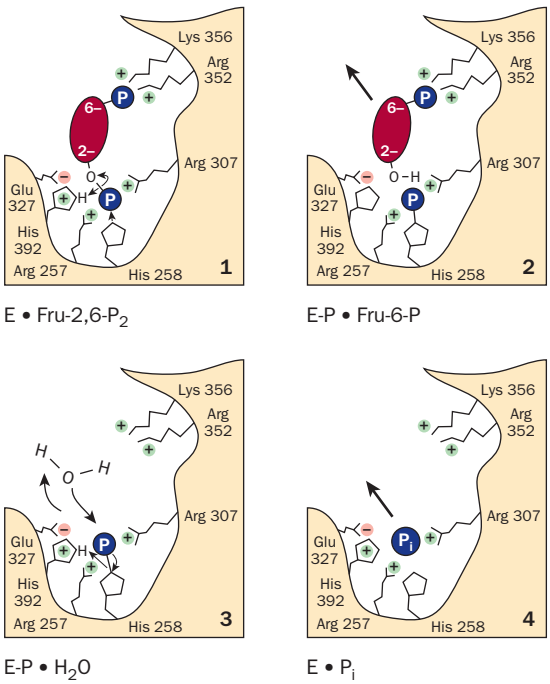


FIGURA 7-8 Catálisis por fructosa-2,6-bisfosfatasa. 1) Lys 356 y Arg 257, 307 y 352 estabilizan la carga cuádruple negativa del sustrato mediante interacciones carga-carga. Glu 327 estabiliza la carga positiva en His 392. 2) El nucleófilo His 392 ataca al grupo fosforilo C-2 y lo transfiere a His 258, formando un intermedio fosforil-enzima. La fructosa-6-fosfato ahora deja la enzima. 3) El ataque nucleofílico por una molécula de agua, posiblemente asistida por Glu 327 que actúa como una base, forma fosfato inorgánico. 4) El ortofosfato inorgánico se libera de Arg 257 y Arg 307. (Reproducida con autorización de Pilkis SJ, *et al*. 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa: una enzima de señalización metabólica. *Annu Rev Biochem* 1995;64:799. © 1995 por Annual Reviews, www.annualreviews.org.)

otras familias de proteínas, estos catalizadores de proteínas o **isozimas** surgen a través de la duplicación de genes. Mientras que las proteasas homólogas descritas actúan sobre diferentes sustratos, las isozimas difieren en características auxiliares tales como la sensibilidad a factores reguladores particulares (véase capítulo 9) o la ubicación subcelular que las adapta a tejidos específicos o circunstancias en lugar de sustratos distintos. Las isozimas que catalizan la reacción idéntica también pueden mejorar la supervivencia al proporcionar una copia "de seguridad" de una enzima esencial.

LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE LAS ENZIMAS FACILITA SU DETECCIÓN

Las cantidades relativamente pequeñas de enzimas contenidas típicamente en las células dificultan la determinación de su presencia y abundancia. Sin embargo, la capacidad de transformar rápidamente miles de moléculas de un sustrato específico en productos imbuye a cada enzima de la capacidad de amplificar su presencia. En condiciones apropiadas (véase capítulo 8), la velocidad de la reacción catalítica que está en monitorización es proporcional a la cantidad de enzima presente, lo que permite inferir su concentración.

Los ensayos de la actividad catalítica de las enzimas se utilizan con frecuencia tanto en la investigación como en los laboratorios clínicos.

Enzimología de una sola molécula

La sensibilidad limitada de los ensayos enzimáticos tradicionales requiere el uso de un grupo grande, o conjunto, de moléculas de enzimas con el fin de producir cantidades medibles de producto. Los datos obtenidos reflejan así la actividad *promedio* de las enzimas individuales en múltiples ciclos de catálisis. Los recientes avances en **nanotecnología** e imagen han permitido observar eventos catalíticos que involucran enzimas discretas y moléculas de sustrato. En consecuencia, los científicos ahora pueden medir la tasa de eventos catalíticos individuales, y algunas veces un paso específico en la catálisis, mediante un proceso llamado **enzimología de una sola molécula**, cuyo ejemplo se ilustra en la **figura 7-9**.

El descubrimiento de fármacos requiere ensayos enzimáticos adecuados para el cribado de alto rendimiento

Las enzimas son objetivos frecuentes para el desarrollo de fármacos y otros agentes terapéuticos. Éstos generalmente toman la forma de inhibidores de enzimas (véase capítulo 8). El descubrimiento de nuevos fármacos se ve facilitado en gran medida cuando se puede analizar simultáneamente un gran número de farmacóforos potenciales de forma rápida y automática, un proceso denominado **cribado de alto rendimiento** (**HTS**, *high-throughput screening*). El HTS emplea la robótica, la óptica, el procesamiento de datos y microfluidos para conducir y monitorizar simultáneamente miles de ensayos paralelos de enzimas. Los dispositivos HTS emplean

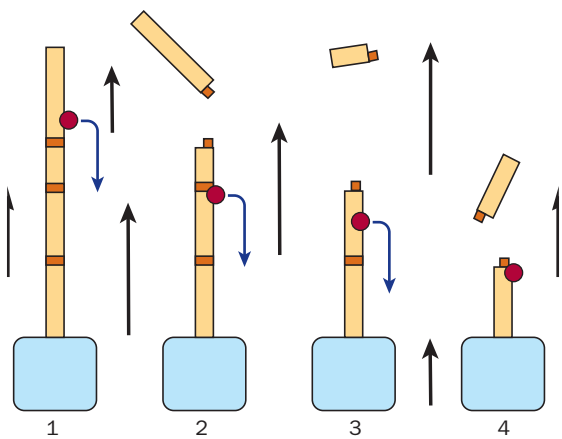


FIGURA 7-9 Observación directa de eventos de escisión del DNA únicos catalizados por una endonucleasa de restricción. Las moléculas de DNA inmovilizadas en perlas (azules) se colocan en una corriente fluida de tampón (flechas negras), lo que hace que asuman una conformación extendida. La escisión en uno de los sitios de restricción (naranja) por una endonucleasa conduce a un acortamiento de la molécula de DNA, que se puede observar directamente en un microscopio ya que las bases de nucleótidos en el DNA son fluorescentes. Aunque la endonucleasa (rojo) no tiene fluorescencia, y por tanto es invisible, la forma progresiva en que se acorta la molécula de DNA (1→4) revela que la endonucleasa se une al extremo libre de la molécula de DNA y se mueve de sitio a sitio.

volúmenes de 4 a 100 µL en placas de plástico de 96, 384 o 1 536 pozos que utilizan robots industriales para dispensar sustratos, coenzimas, enzimas e inhibidores potenciales en una multiplicidad de combinaciones y concentraciones. El HTS proporciona un complemento perfecto para la **química combinatoria**, un método para generar grandes bibliotecas de compuestos químicos que abarcan todas las combinaciones posibles de un conjunto dado de precursores químicos. Los ensayos enzimáticos que producen un producto cromogénico o fluorescente son ideales ya que los detectores ópticos pueden monitorizar fácilmente múltiples muestras.

Inmunoensayos ligados a enzimas

La sensibilidad de los ensayos enzimáticos puede aprovecharse para detectar proteínas que carecen de actividad catalítica. Los **ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas** (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assays*) usan anticuerpos unidos de modo covalente a una "enzima informadora" tal como fosfatasa alcalina o peroxidasa de rábano picante, cuyos productos se detectan de modo fácil, generalmente por la absorción de la luz o por la fluorescencia. Las muestras de suero u otras muestras biológicas que se analizarán se colocan en placas de microtitulación de plástico y pocillos múltiples, donde las proteínas se adhieren a la superficie plástica y se inmovilizan. Cualquier plástico expuesto que quede se "bloquea" con posterioridad mediante la adición de una proteína no antigénica tal como albúmina de suero bovino. A continuación se agrega una solución de anticuerpo unido covalentemente a una enzima informadora. Los anticuerpos se adhieren al antígeno inmovilizado y se inmovilizan ellos mismos. El exceso de moléculas de anticuerpos libres se elimina mediante lavado. La presencia y cantidad de anticuerpo unido se determina luego mediante la adición del sustrato para la enzima informadora, y midiendo la velocidad de su conversión en producto.

NAD(P)$^+$: las deshidrogenasas dependientes se analizan espectrofotométricamente

Las propiedades fisicoquímicas de los reactivos en una reacción catalizada por enzimas dictan las opciones para la prueba de la actividad enzimática. Los ensayos espectrofotométricos explotan la capacidad de un sustrato o producto para absorber la luz. Las coenzimas reducidas NADH y NADPH, escritas como NAD(P)H, absorben luz a una longitud de onda de 340 nm, mientras que sus formas oxidadas NAD(P)$^+$ no (**figura 7-10**). Cuando se reduce NAD(P)$^+$, la absorción a 340 nm aumenta, por tanto, en proporción a, y a una velocidad determinada por, la cantidad de NAD(P)H producido. Por el contrario, cuando una deshidrogenasa cataliza la oxidación de NAD(P)H, se observará una disminución en la absorción a 340 nm. En cada caso, la velocidad de cambio en la absorción a 340 nm será proporcional a la cantidad de la enzima presente.

El ensayo de enzimas cuyas reacciones no van acompañadas de un cambio en la absorción o fluorescencia es generalmente más difícil. En algunos casos, el producto o el sustrato restante se puede transformar en un compuesto detectado con más facilidad, aunque el producto de la reacción puede separarse del sustrato sin reaccionar antes de la medición. Una estrategia alternativa es diseñar un sustrato sintético cuyo producto absorba luz o sea fluorescente. Por ejemplo, la hidrólisis del enlace fosfoéster en *p*-nitrofenil fosfato (*p*NPP, *p-nitrophenyl phosphate*), una molécula de sustrato artificial, se cataliza a una velocidad medible mediante numerosas fosfatasas, fosfodiesterasas y serina proteasas. Mientras que el *p*NPP no

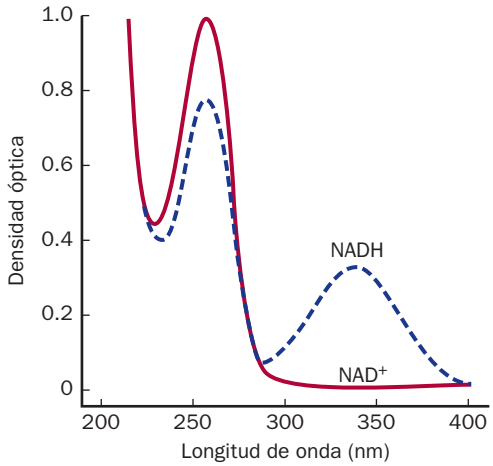


FIGURA 7-10 Espectros de absorción de NAD$^+$ y NADH. Las densidades son para una solución de 44 mg/L en una célula con una trayectoria de luz de 1 cm. NADP$^+$ y NADPH tienen espectros análogos a NAD$^+$ y NADH, respectivamente.

absorbe la luz visible, la forma aniónica del *p*-nitrofenol (pK_a 6.7) generada tras su hidrólisis absorbe fuertemente la luz a 419 nm, y así puede cuantificarse.

Muchas enzimas pueden ser examinadas al unirse a una deshidrogenasa

Otro enfoque bastante general es emplear un ensayo "acoplado" (**figura 7-11**). Típicamente, una deshidrogenasa cuyo sustrato es el producto de la enzima de interés se agrega en exceso catalítico. La tasa de aparición o desaparición de NAD(P)H depende entonces de la velocidad de la reacción enzimática a la que se ha acoplado la deshidrogenasa.

EL ANÁLISIS DE DETERMINADAS ENZIMAS DE DIAGNÓSTICO DE SIDA

El análisis de las enzimas en el plasma sanguíneo ha jugado un papel central en el diagnóstico de varios procesos de la enfermedad.

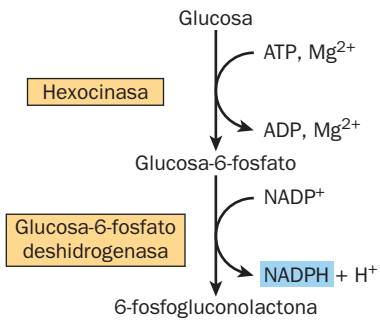


FIGURA 7-11 Ensayo enzimático acoplado para actividad de hexocinasa. La producción de glucosa-6-fosfato por hexocinasa está acoplada a la oxidación de este producto por glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en presencia de una enzima añadida y NADP$^+$. Cuando está presente un exceso de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la velocidad de formación de NADPH, que puede medirse a 340 nm, se rige por la velocidad de formación de glucosa-6-fosfato por la hexocinasa.

Muchas enzimas son componentes funcionales de la sangre. Los ejemplos incluyen pseudocolinesterasa, lipoproteína lipasa y componentes de las cascadas que desencadenan la coagulación de la sangre, la disolución del coágulo y la opsonización de los microbios invasores. Varias enzimas se liberan en el plasma después de la muerte o lesión celular. Si bien estas últimas enzimas no realizan ninguna función fisiológica en el plasma, pueden servir como **biomarcadores**, moléculas cuya apariencia o niveles suelen ayudar al diagnóstico y pronóstico de enfermedades y lesiones que afectan tejidos específicos. La concentración plasmática de una enzima u otra proteína liberada como consecuencia de una lesión puede aumentar temprano o tarde y disminuir rápida o lentamente. Las proteínas citoplásmicas tienden a aparecer de modo más rápido que las de los orgánulos subcelulares. La velocidad con la cual las enzimas y otras proteínas se eliminan del plasma depende en parte de su susceptibilidad a la proteólisis.

El análisis cuantitativo de la actividad de las enzimas liberadas u otras proteínas, típicamente en plasma o suero, pero también en orina o en varias células, proporciona información sobre el diagnóstico, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. Los ensayos de actividad enzimática típicamente emplean ensayos cinéticos estándares de velocidades de reacción inicial. El **cuadro 7-1** enumera varias enzimas de valor en el diagnóstico clínico. Tenga en cuenta que estas enzimas no son absolutamente específicas para la enfermedad indicada. Por ejemplo, los niveles sanguíneos elevados de fosfatasa ácida prostática se asocian típicamente con el cáncer de próstata, pero también pueden ocurrir con otros cánceres y afecciones no cancerosas. La interpretación de los datos del ensayo enzimático debe tener en cuenta la sensibilidad y la especificidad diagnóstica de la prueba enzimática, junto con otros factores provocados por un examen clínico exhaustivo que incluya la edad del paciente, el sexo, el antecedente y el posible uso del fármaco.

Análisis de enzimas séricas después de una lesión tisular

Una enzima útil para la enzimología diagnóstica debe ser relativamente específica para el tejido u órgano en estudio, y debe aparecer en el plasma u otro fluido en un momento útil para el diagnóstico (la "ventana de diagnóstico"). En el caso de un infarto de miocardio (MI, *myocardial infarction*), la detección debe ser posible dentro de unas pocas horas de un diagnóstico preliminar para permitir el inicio de la terapia apropiada. Las primeras enzimas utilizadas para diagnosticar el infarto de miocardio fueron la aspartato aminotransferasa (AST, *aspartate aminotransferase*), la alanina aminotransferasa (ALT, *alanine aminotransferase*) y la lactato deshidrogenasa (LDH, *lactate dehydrogenase*). El diagnóstico con LDH explota las variaciones específicas del tejido en su estructura cuaternaria (**figura 7-12**). Sin embargo, se libera con relativa lentitud luego de una lesión. La creatina cinasa (CK, *creatine kinase*) tiene tres isozimas específicas de tejido: músculo esquelético (CK-MM, *skeletal muscle*), cerebro (CK-BB, *brain*) y corazón y músculo esquelético (CK-MB, *heart and skeletal muscle*), junto con una ventana de diagnóstico más óptima. Al igual que con la LDH, las isozimas CK individuales son separables por electroforesis. El ensayo de los niveles de CK en plasma continúa actualmente en uso para evaluar trastornos del músculo esquelético tales como la distrofia muscular de Duchene.

CUADRO 7-1 Enzimas séricas principales utilizadas en el diagnóstico clínico

Enzima sérica	Principal uso diagnóstico
Alanina aminotransferasa (ALT)	Hepatitis viral
Amilasa	Pancreatitis aguda
Ceruloplasmina	Degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson)
Creatina cinasa	Trastornos musculares
Gammaglutamil transferasa	Varias enfermedades del hígado
Lactato deshidrogenasa isozima 5	Enfermedades del hígado
Lipasa	Pancreatitis aguda
Betaglucocerebrosidasa	Enfermedad de Gaucher
Fosfatasa alcalina (isozimas)	Diversos trastornos óseos, enfermedades obstructivas hepáticas

ALT: alanina aminotransferasa.
Nota: Muchas de las enzimas anteriores no son específicas de la enfermedad enumerada.

La troponina plasmática constituye el marcador de diagnóstico actualmente preferido para un MI

La **troponina** es un complejo de tres proteínas presentes en el aparato contráctil del *músculo esquelético* y *cardiaco*, pero no en el *músculo liso* (véase capítulo 51). Los niveles de troponina aumentan de 2 a 6 horas después de un infarto de miocardio y permanecen elevados durante 4 a 10 días. Las mediciones inmunológicas de los niveles plasmáticos de troponinas cardiacas I y T proporcionan indicadores sensibles y específicos de daño al músculo cardiaco. Dado que otras fuentes de daño del músculo cardiaco también elevan los niveles de troponina sérica, las troponinas cardiacas proporcionan un marcador general de lesión cardiaca.

Usos clínicos adicionales de las enzimas

Las enzimas se emplean en el laboratorio clínico para determinar la presencia y la concentración de metabolitos críticos. Por ejemplo, la glucosa oxidasa se utiliza frecuentemente para medir la concentración de glucosa en plasma. Las enzimas también se emplean con mayor frecuencia para el tratamiento de lesiones y enfermedades. Los ejemplos incluyen el activador del plasminógeno tisular (tPA, *tissue plasminogen activator*) o la estreptocinasa para el tratamiento del MI agudo y la tripsina para el tratamiento de la fibrosis quística. La infusión intravenosa de glucosilasas producidas de forma recombinante puede usarse para tratar síndromes de almacenamiento lisosómico tales como enfermedad de Gaucher (betaglucosidasa), enfermedad de Pompe (alfaglucosidasa), enfermedad de Fabry (alfagalactosidasa A) y enfermedad de Sly (betaglucuronidasa).

LAS ENZIMAS FACILITAN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS E INFECCIOSAS

Muchas técnicas de diagnóstico aprovechan la especificidad y la eficacia de las enzimas que actúan sobre los oligonucleótidos, como el DNA. Las enzimas conocidas como **endonucleasas de restricción**, por ejemplo, escinden DNA bicatenario en sitios específicados por una secuencia de cuatro, seis o más pares de bases llamados **sitios de restricción**. La escisión de una muestra de DNA

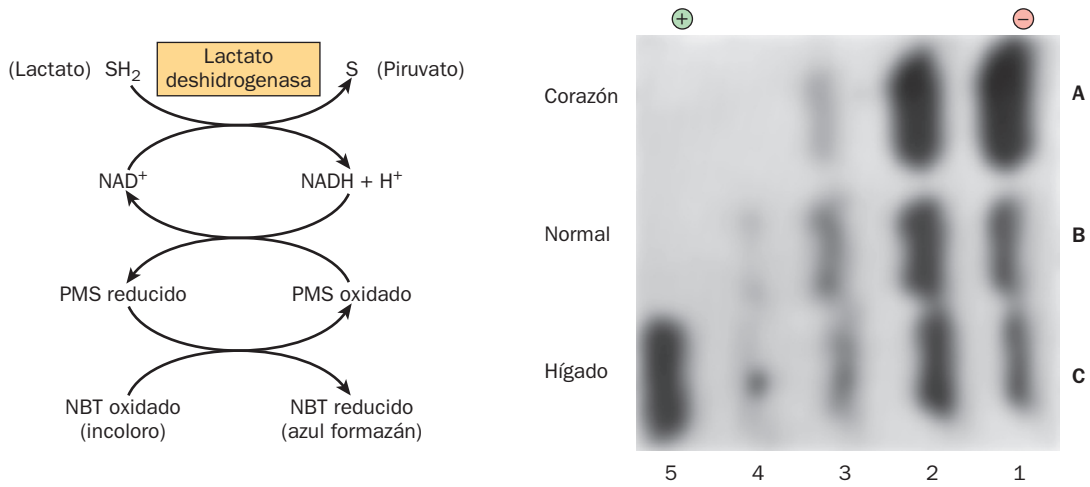


FIGURA 7-12 Patrones normales y patológicos de isozimas de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero humano. Las muestras de suero se separaron por electroforesis. Las isoenzimas LDH se visualizaron luego usando un reactivo específico de reacción acoplado a colorante para LDH. El patrón **A** es el suero de un paciente con un infarto de miocardio; **B** es suero normal, y **C** es el suero de un paciente con enfermedad hepática. Los números arábigos identifican las isoenzimas LDH 1 a 5. La electroforesis y una técnica de detección específica pueden usarse para visualizar isoenzimas de enzimas distintas de LDH.

con una enzima de restricción produce un conjunto característico de fragmentos de DNA más pequeños (véase capítulo 39). Las desviaciones en el patrón de producto normal, llamadas **polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP,** *restriction fragment length polymorphisms*), ocurren si una mutación hace que un sitio de restricción sea irreconocible para su endonucleasa de restricción afín o, como alternativa, genere un nuevo sitio de reconocimiento. Los RFLP se utilizan actualmente para facilitar la detección prenatal de una serie de trastornos hereditarios, que incluyen el rasgo drepanocítico, betatalasemia, fenilcetonuria infantil y la enfermedad de Huntington.

Aplicaciones médicas de la reacción en cadena de la polimerasa

Como se describe en el capítulo 39, la **reacción en cadena de la polimerasa** (**PCR**, *polymerase chain reaction*) emplea una DNA polimerasa termoestable y cebadores de oligonucleótidos apropiados para producir miles de copias de un segmento definido de DNA a partir de una cantidad diminuta de material de partida. La PCR permite a los científicos médicos, biólogos y forenses detectar y caracterizar el DNA presente inicialmente a niveles demasiado bajos para la detección directa. Además de la detección de mutaciones genéticas, la PCR se puede utilizar para detectar patógenos y parásitos como *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas, y *Neisseria meningitidis*, el agente causante de la meningitis bacteriana, a través de la amplificación selectiva de su DNA.

EL DNA RECOMBINANTE PROPORCIONA UNA HERRAMIENTA IMPORTANTE PARA EL ESTUDIO DE LAS ENZIMAS

Las muestras de enzimas altamente purificadas son esenciales para el estudio de su estructura y función. El aislamiento de una enzima individual, en particular una presente en baja concentración, entre las miles de proteínas presentes en una célula puede ser en extremo difícil. Al clonar el gen de la enzima de interés, por lo general es posible producir grandes cantidades de su proteína codificada en *Escherichia coli* o levadura. Sin embargo, no todas las proteínas animales pueden expresarse en su forma apropiadamente plegada, funcionalmente competente en células microbianas, ya que estos organismos no pueden realizar ciertas tareas de procesamiento postraduccionales específicas de los organismos superiores. En estos casos, las opciones incluyen la expresión de genes recombinantes en sistemas de células de animales cultivadas o empleando el vector de expresión de baculovirus de células de insecto cultivadas. Para obtener más detalles sobre las técnicas de DNA recombinante, véase capítulo 39.

Las proteínas de fusión recombinantes se purifican por afinidad cromatográfica

La tecnología de DNA recombinante también puede usarse para generar proteínas específicamente modificadas para purificarlas de modo fácil por afinidad cromatográfica. El gen de interés está unido a una secuencia de oligonucleótidos adicional que codifica una extensión carboxilo o amino terminal de la proteína de interés. La **proteína de fusión** resultante contiene un nuevo dominio adaptado para interactuar con un soporte de afinidad modificado apropiadamente. Un enfoque popular es unir un oligonucleótido que codifica seis residuos de histidina consecutivos. La proteína expresada "His tag" se une a soportes cromatográficos que contienen un ion de metal divalente inmovilizado tal como Ni^{2+} o Cd^{2+}. Este enfoque explota la capacidad de estos cationes divalentes para unir residuos His. Una vez unidas, las proteínas contaminantes se eliminan por lavado y la enzima marcada con His se eluye con tampones que contienen altas concentraciones de histidina libre o imidazol, que compiten con las colas de polihistidina por la unión a los iones metálicos inmovilizados. De manera alternativa, el dominio de unión a sustrato de glutatión S-transferasa (GST, *glutathione S-transferase*) puede servir como una "etiqueta GST". La **figura 7-13** ilustra la purificación de una proteína-fusión GST usando un soporte de

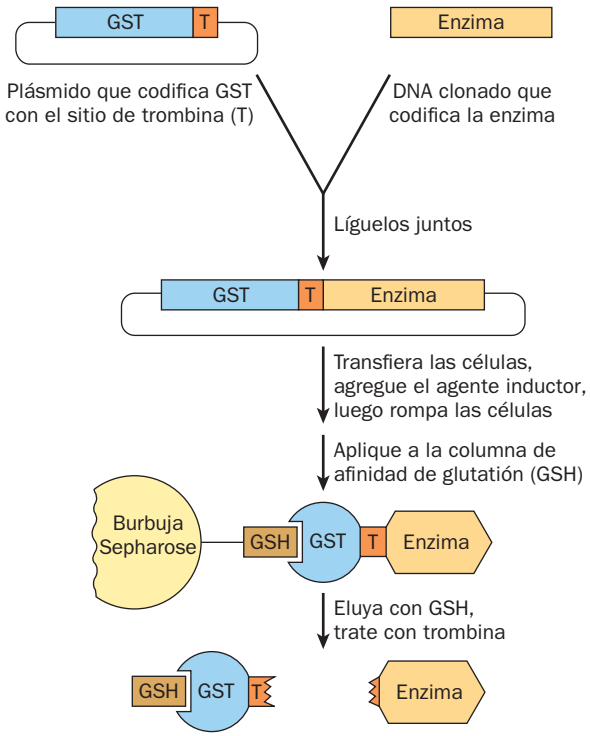


FIGURA 7-13 Uso de proteínas de fusión de glutatión S-transferasa (GST) para purificar proteínas recombinantes. (GSH, glutatión).

afinidad que contiene glutatión unido. La adición de un dominio de fusión N-terminal también puede ayudar a inducir el plegamiento apropiado del resto del polipéptido recombinante. La mayoría de los dominios de fusión también posee un sitio de unión para una proteasa altamente específica, tal como la trombina en la región que une las dos porciones de la proteína para permitir su eliminación final.

La mutagénesis dirigida al sitio proporciona información mecanicista

Una vez que se ha establecido la capacidad de expresar una proteína a partir de su gen clonado, es posible emplear **mutagénesis dirigida al sitio** para cambiar residuos de aminoacilos específicos alterando sus codones. Utilizado en combinación con análisis cinéticos y cristalografía de rayos X, este enfoque facilita la identificación de los papeles específicos de los residuos de aminoacilos dados en la unión al sustrato y la catálisis. Por ejemplo, la inferencia de que un residuo de aminoacilo particular funciona como un ácido general puede probarse reemplazándolo con un resto de aminoacilo incapaz de donar un protón.

RIBOZIMAS: ARTEFACTOS DEL MUNDO DEL RNA

Cech descubrió la primera molécula de RNA catalítica

La participación de catalizadores enzimáticos en la maduración postraduccional de ciertas proteínas tiene analogías en el mundo del RNA. Muchas moléculas de RNA se someten a reacciones de procesamiento que eliminan segmentos de oligonucleótido y religan los segmentos restantes para formar el producto de polinucleótido maduro (véase capítulo 36). Sin embargo, no todos estos catalizadores son proteínas. Al examinar el procesamiento de las moléculas de RNA ribosómico (rRNA) en el protozoo ciliado *Tetrahymena* a principios de la década de 1980, Thomas Cech y colaboradores observaron que el procesamiento del rRNA 26S transcurría sin problemas *in vitro* incluso en *ausencia* total de proteína. La fuente de esta actividad de empalme se remonta a un segmento catalítico de 413 pb que retuvo su actividad catalítica, incluso cuando se replica en *Escherichia coli* (véase capítulo 39). Antes de ese momento se había pensado que los polinucleótidos servían únicamente como entidades de almacenamiento y transmisión de información, y que la catálisis se limitaba únicamente a las proteínas.

Varias otras ribozimas han sido descubiertas desde entonces. La gran mayoría cataliza reacciones de desplazamiento nucleofílico que se dirigen a los enlaces fosfodiéster de la cadena principal de RNA. En pequeños RNA autoescindibles, como el RNA del virus de la cabeza de martillo o hepatitis delta, el nucleófilo atacante es agua y el resultado es la hidrólisis. Para las ribozimas del intrón de grupo grande I, el nucleófilo atacante es el 3'-hidroxilo de la ribosa terminal de otro segmento de RNA y el resultado es una reacción de empalme.

El ribosoma: la última ribozima

El ribosoma fue el primer ejemplo de una "máquina molecular" por ser reconocida. Es un complejo masivo compuesto por puntajes de subunidades de proteínas y varias moléculas grandes de RNA ribosómico y lleva a cabo el proceso altamente vital y complejo de síntesis de cadenas largas de polipéptidos siguiendo las instrucciones codificadas en moléculas de RNA mensajero (mRNA) (véase capítulo 37). Durante muchos años se supuso que los rRNA desempeñaban un papel pasivo y estructural, o tal vez ayudaban en el reconocimiento de mRNA afines a través de un mecanismo de emparejamiento de bases. Por tanto, fue algo sorprendente cuando se descubrió que los rRNA eran tan necesarios como suficientes para catalizar la síntesis de péptidos.

La hipótesis del mundo del RNA

El descubrimiento de las ribozimas ha tenido una profunda influencia en la teoría de la evolución. Durante muchos años, los científicos habían planteado la hipótesis de que los primeros catalizadores biológicos se formaron cuando los aminoácidos contenidos en la sopa primordial se fusionaron para formar proteínas simples. Al darse cuenta de que el RNA podía transportar información y catalizar reacciones químicas, surgió una nueva hipótesis del "mundo del RNA" en la que el RNA constituía la primera macromolécula biológica. Con el tiempo un oligonucleótido más químicamente estable, el DNA, reemplazó el RNA para el almacenamiento de información a largo plazo, mientras que las proteínas, en virtud de su mayor grupo funcional químico y diversidad conformacional, dominaron la catálisis. Si se supone que se formó algún tipo de híbrido de RNA-proteína como intermediario en la transición de los catalizadores de ribonucleótidos a polipéptidos, no se debe buscar más allá del ribosoma para encontrar el supuesto eslabón perdido.

¿Por qué las proteínas no asumieron todas las funciones catalíticas? Es de suponer que, en el caso del ribosoma, el proceso fue demasiado complejo y esencial como para permitir muchas

oportunidades para que los posibles competidores pudieran ganar un punto de apoyo. En el caso de los pequeños RNA autoescindibles y los intrones autocortes, pueden representar uno de los pocos casos en que la autocatálisis de RNA es más eficiente que el desarrollo de un nuevo catalizador de proteína.

RESUMEN

- Las enzimas son catalizadores eficientes cuya especificidad rigurosa se extiende al tipo de reacción catalizada y, típicamente, a un único sustrato.
- Los grupos prostéticos orgánicos e inorgánicos, los cofactores y las coenzimas desempeñan un papel importante en la catálisis. Las coenzimas, muchas de las cuales son derivados de las vitaminas B, sirven como "transbordadoras" para grupos de uso común como aminas, electrones y grupos acetilo.
- Durante la catálisis, las enzimas redireccionan los cambios conformacionales inducidos por la unión del sustrato para efectuar cambios complementarios que facilitan la transformación en producto.
- Los mecanismos catalíticos empleados por las enzimas incluyen la introducción de la cepa, la aproximación de los reactivos, la catálisis ácido-base y la catálisis covalente. La proteasa del VIH ilustra la catálisis ácido-base; la quimotripsina y la fructosa-2,6-bisfosfatasa ilustran la catálisis covalente.
- Los residuos aminoacílicos que participan en la catálisis están altamente conservados a través de la evolución de las enzimas. La mutagénesis dirigida al sitio, utilizada para cambiar los residuos sospechosos de ser importantes en la unión de catálisis o sustrato, proporciona información sobre los mecanismos de acción de la enzima.
- La actividad catalítica de las enzimas revela su presencia, facilita su detección y proporciona la base para los inmunoensayos ligados a enzimas. Muchas enzimas pueden analizarse espectrofotométricamente al acoplarlas a una deshidrogenasa dependiente de $NAD(P)^+$-.
- La química combinatoria genera extensas bibliotecas de posibles activadores de enzimas e inhibidores que pueden ser probados por HTS.
- El ensayo de las enzimas plasmáticas ayuda al diagnóstico y pronóstico de la pancreatitis aguda y de diversos trastornos óseos y hepáticos. Sin embargo, las enzimas séricas han sido reemplazadas por el ensayo de troponinas plasmáticas como diagnóstico de un infarto de miocardio.
- Las endonucleasas de restricción facilitan el diagnóstico de enfermedades genéticas al revelar polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.
- La PCR amplifica el DNA inicialmente presente en cantidades demasiado pequeñas para el análisis.
- La unión de un polihistidilo, GST u otra "etiqueta" al extremo N o C de una proteína recombinante facilita su purificación por afinidad cromatográfica sobre un soporte sólido que contiene un ligando inmovilizado tal como un catión divalente (p. ej., Ni^{2+}) o glutatión. Las proteasas específicas pueden eliminar las "etiquetas" de afinidad y generar la enzima nativa.
- No todas las enzimas son proteínas. Se conocen varias ribozimas que pueden cortar y volver a unir los enlaces fosfodiéster del RNA. En el ribosoma es el rRNA, y no los componentes polipeptídicos, los principales responsables de la catálisis.

REFERENCIAS

Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, *et al*. Cardiac troponin assays: guide to understanding analytical characteristics and their impact on clinical care. *Clin Chem* 2017;63:73.

de la Peña M, García-Robles I, Cervera A. The hammerhead ribozyme: a long history for a short RNA. *Molecules* 2017;22:78.

Frey PA, Hegeman AD. *Enzyme Reaction Mechanisms*. Oxford University Press; 2006.

Gupta S, de Lemos JA. Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. *Prog Cardiovasc Dis* 2007;50:151.

Hedstrom L. Serine protease mechanism and specificity. *Chem Rev* 2002;102:4501.

Knight AE. Single enzyme studies: a historical perspective. *Meth Mol Biol* 2011;778:1.

Melanson SF, Tanasijevic MJ. Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. *Cardiovasc Pathol* 2005;14:156.

Rho JH, Lampe PD. High–throughput analysis of plasma hybrid markers for early detection of cancers. *Proteomes* 2014;2:1.

Sun B, Wang MD. Single-hyphen molecule optical-trapping techniques to study molecular mechanisms of a replisome. *Methods Enzymol* 2017;582:55.

CAPÍTULO

8

Enzimas: cinética

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir el alcance y los objetivos del análisis cinético de las enzimas.
- Indicar si ΔG, el cambio general en la energía libre de una reacción, depende del mecanismo de reacción.
- Indicar si ΔG es una función de las *velocidades* de las reacciones.
- Explicar la relación entre K_{eq}, las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, y la relación de las constantes de velocidad k_1/k_{-1}.
- Resumir cómo la concentración de iones de hidrógeno, de enzima y de sustrato afectan la velocidad de una reacción catalizada por enzimas.
- Utilizar la teoría de las colisiones para explicar cómo la temperatura afecta la velocidad de una reacción química.
- Definir las condiciones de velocidad inicial y explicar la ventaja obtenida de la medición de la velocidad de una reacción catalizada por enzimas bajo estas condiciones.
- Describir la aplicación de las formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten para estimar K_m y $V_{máx}$.
- Dar una razón por la cual una forma lineal de la ecuación de Hill es utilizada para evaluar cómo la unión al sustrato influye en el comportamiento cinético de ciertas enzimas multiméricas.
- Comparar los efectos de una concentración creciente de sustrato en la cinética de la inhibición simple competitiva y no competitiva.
- Describir cómo los sustratos se agregan a, y los productos parten de, una enzima que sigue un mecanismo de ping-pong.
- Describir cómo los sustratos se agregan a, y los productos parten de, una enzima que sigue un mecanismo de equilibrio rápido.
- Proporcionar ejemplos de la utilidad de la cinética enzimática para determinar el modo de acción de los fármacos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Se requiere un conjunto completo y equilibrado de actividades enzimáticas para mantener la homeostasis. La cinética enzimática, las medidas cuantitativas de las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas y el estudio sistemático de los factores que afectan estas velocidades, constituye una herramienta central para el análisis, diagnóstico y tratamiento de los desequilibrios enzimáticos que subyacen bajo numerosas enfermedades humanas. Por ejemplo, el análisis cinético puede revelar el número y el orden de los pasos individuales a través de los cuales las enzimas transforman sustratos en productos, y junto con la mutagénesis dirigida al sitio, los análisis cinéticos pueden revelar detalles del mecanismo catalítico de una enzima determinada. En la sangre, la aparición o la elevación de los niveles de enzimas particulares sirve como indicadores clínicos para patologías como infartos de miocardio, cáncer de próstata y lesiones en el hígado. La participación de las enzimas en prácticamente todos los procesos fisiológicos las convierte en los objetivos de elección para fármacos que curan o mejoran enfermedades humanas. La cinética enzimática aplicada representa la herramienta principal a través de la cual los científicos identifican y caracterizan a los agentes terapéuticos que inhiben selectivamente las velocidades de los procesos catalizados por enzimas específicas. Así pues, la cinética enzimática desempeña

un papel central y esencial en el descubrimiento de fármacos, en comparación con la farmacodinamia, y en la elucidación del modo de acción de los fármacos.

LAS REACCIONES QUÍMICAS SON DESCRITAS UTILIZANDO ECUACIONES EQUILIBRADAS

Una **ecuación química equilibrada** enumera las especies químicas iniciales (sustratos) presentes y las nuevas especies químicas (productos) formadas para una reacción química particular, todo en sus respectivas proporciones o **estequiometría**. Por ejemplo, la ecuación equilibrada (1) indica que una molécula de cada uno de los sustratos A y B reacciona para formar una molécula de cada uno de los productos P y Q:

$$A + B \rightleftarrows P + Q \quad (1)$$

Las flechas dobles indican reversibilidad, una propiedad intrínseca de todas las reacciones químicas. Por tanto, para la reacción (1), si A y B pueden formar P y Q, entonces P y Q también pueden formar A y B. La designación de un reactante particular como un "sustrato" o "producto" es, por tanto, un poco arbitraria ya que los productos para una reacción escritos en una dirección son los sustratos para la reacción inversa. El término "productos" es, sin embargo, a menudo utilizado para designar a los reactantes cuya formación está favorecida de modo termodinámico. Las reacciones para las cuales los factores termodinámicos favorecen fuertemente la formación de los productos a los que apunta la flecha a menudo se representan con una sola flecha como si fueran "irreversibles":

$$A + B \rightarrow P + Q \quad (2)$$

Las flechas unidireccionales también se usan para describir reacciones en células vivas donde los productos de la reacción (2) son inmediatamente consumidos por una reacción posterior catalizada por enzimas o rápidamente escapan de la célula, por ejemplo, CO_2. La eliminación rápida del producto P o Q, por tanto, impide de manera efectiva la aparición de la reacción inversa, haciendo que la ecuación (2) sea **funcionalmente irreversible bajo condiciones fisiológicas**.

LOS CAMBIOS EN LA ENERGÍA LIBRE DETERMINAN LA DIRECCIÓN Y EL ESTADO DE EQUILIBRIO DE LAS REACCIONES QUÍMICAS

El cambio de energía libre de Gibbs ΔG (también llamado energía libre o energía de Gibbs) describe en forma cuantitativa tanto la *dirección* en la cual una reacción química tenderá a proceder como las concentraciones de reactantes y productos que estarán presentes en equilibrio. ΔG para una reacción química es igual a la suma de las energías libres de formación de los productos de reacción ΔG_p menos la suma de las energías libres de formación de los sustratos ΔG_S. Una cantidad similar pero diferente designada por ΔG^0 denota el cambio en la energía libre que acompaña la transición del estado estándar, las concentraciones de un molar de sustratos y productos, al equilibrio. Un término bioquímico más útil es $\Delta G^{0\prime}$, que define ΔG^0 en un estado estándar de protones 10^{-7} M, pH 7.0. Si la energía libre de la formación de los productos es *más baja* que la de los sustratos, los signos de ΔG^0 y $\Delta G^{0\prime}$ serán *negativos*, indicando que la reacción tal como está escrita es favorecida en dirección de izquierda a derecha. Tales reacciones se conocen como **espontáneas**. El **signo** y la **magnitud** del cambio de energía libre determinan cuánto avanzará la reacción.

La ecuación (3) ilustra la relación entre el equilibrio K_{eq} constante y ΔG^0:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (3)$$

donde R es la constante de gas (1.98 cal/mol°K o 8.31 J/mol°K) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin. K_{eq} es igual al producto de las concentraciones de los productos de reacción, cada uno elevado al poder de su estequiometría, dividido por el producto de los sustratos, cada uno elevado al poder de su estequiometría:

Para la reacción $A + B \rightleftarrows P + Q$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (4)$$

y para la reacción

$$A + A \rightleftarrows P \quad (5)$$

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[A]^2} \quad (6)$$

ΔG^0 puede calcularse a partir de la ecuación (3) si las concentraciones molares de sustratos y productos presentes en equilibrio son conocidos. Si ΔG^0 es un número negativo, K_{eq} será mayor que la unidad, y la concentración de los productos en equilibrio excederá la de los sustratos. Si ΔG^0 es positivo, K_{eq} será menor que la unidad, y se favorecerá la formación de sustratos.

Tenga en cuenta que, dado que ΔG^0 es una función exclusiva de los estados inicial y final de las especies que reaccionan, puede proporcionar información sólo sobre la *dirección* y el *estado de equilibrio* de la reacción. ΔG^0 es independiente del **mecanismo** de la reacción, y no proporciona información sobre las ***velocidades*** de las reacciones. En consecuencia, y como se explica a continuación, aunque una reacción puede tener un ΔG^0 o $\Delta G^{0\prime}$ negativo grande, puede tener lugar a una velocidad insignificante.

LAS VELOCIDADES DE LAS REACCIONES ESTÁN DETERMINADAS POR SU ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

Las reacciones transcurren a través de estados de transición

El concepto del **estado de transición** es fundamental para la comprensión de las bases químicas y termodinámicas de la catálisis. La ecuación (7) representa una reacción de transferencia grupal en la

cual el grupo E que ingresa desplaza a un grupo saliente L, adjunto inicialmente a R:

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad (7)$$

El resultado neto de este proceso es transferir el grupo R de L a E. A mitad de camino del desplazamiento, el enlace entre R y L se ha debilitado, pero aún no se ha eliminado por completo, y el nuevo enlace entre E y R aún no está completamente formado. Este intermedio transitorio, en el que no hay sustrato libre ni el producto existe, se denomina **estado de transición, E... R... L**. Las líneas punteadas representan los enlaces "parciales" que están experimentando formación y ruptura. La **figura 8-1** proporciona una descripción más detallada del estado de transición intermedio formado durante la transferencia de un grupo fosforilo.

Se puede pensar que la reacción (7) consiste en dos "reacciones parciales", la primera corresponde a la formación (F) y la segunda a la decadencia posterior (D) del estado de transición intermedio. En cuanto a todas las reacciones, los cambios característicos en la energía libre, ΔG_F y ΔG_D están asociados con cada reacción parcial:

$$E + R - L \rightleftarrows E \ldots R \ldots L \quad \Delta G_F \quad (8)$$

$$E \ldots R \ldots L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G_D \quad (9)$$

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G = \Delta G_F + \Delta G_D \quad (10)$$

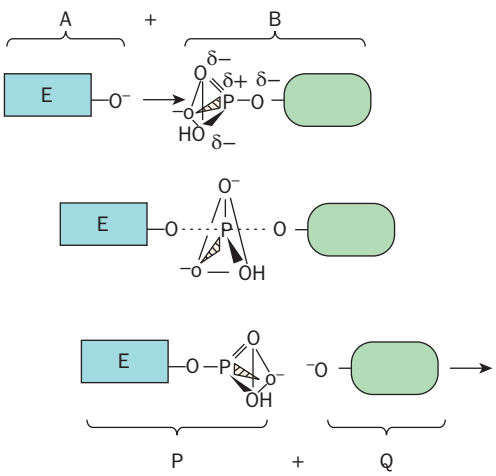


FIGURA 8-1 Formación de un estado intermedio de transición durante una reacción química simple, A + B → P + Q. Se muestran tres etapas de una reacción química en la cual un grupo fosforilo se transfiere del grupo L saliente (verde) al grupo E entrante (azul). **Arriba:** el grupo E entrante (corchete A) se acerca al otro reactante, L-fosfato (corchete B). Observe cómo los tres átomos de oxígeno vinculados por las líneas triangulares y el átomo de fósforo del grupo fosforilo forma una pirámide. **Centro:** a medida que E se acerca al L-fosfato, el nuevo enlace entre E y el grupo fosforilo comienza a formarse (línea de puntos) a medida que se debilita el enlace de L con el grupo fosforilo. Estos enlaces parcialmente formados están indicados por líneas de puntos. **Abajo:** la formación del nuevo producto, E-fosfato (corchete P), se ha completado a medida que sale el grupo saliente L (corchete Q). Observe cómo la geometría del grupo fosforilo difiere entre el estado de transición y el sustrato o producto. El fósforo y los tres átomos de oxígeno que ocupan las cuatro esquinas de una pirámide en el sustrato y el producto se vuelven coplanares, como lo destaca el triángulo, en el estado de transición.

Para la reacción general (10), ΔG es la suma numérica de ΔG_F y ΔG_D. En cuanto a cualquier ecuación de dos términos, no es posible deducir de su resultante ΔG, ya sea el signo o la magnitud de ΔG_F o ΔG_D.

Muchas reacciones involucran varios estados de transición sucesivos, cada uno con un cambio asociado en la energía libre. Para estas reacciones, el ΔG global representa la suma de *todos* los cambios de la energía libre asociados con la formación y la decadencia de *todos* los estados de transición. **Por tanto, no es posible inferir a partir del ΔG general, el número o tipo de estados de transición a través de los cuales avanza la reacción.** Dicho de otra manera, *la termodinámica de la reacción general no nos dice nada sobre el mecanismo o la cinética.*

ΔG_F define la energía de activación

Independientemente del signo o magnitud de ΔG, ΔG_F para la abrumadora mayoría de las reacciones químicas tiene un signo positivo, lo que indica que la formación del estado de transición requiere superar una o más barreras de energía. Por esta razón, ΔG_F para alcanzar un estado de transición a menudo se denomina **energía de activación**, E_{act}. La facilidad y, por tanto, la frecuencia con la cual se supera esta barrera está *inversamente* relacionada con E_{act}. Los parámetros termodinámicos que determinan qué tan *rápido* una reacción avanza son los valores de ΔG_F para la formación de los estados de transición a través de los cuales transcurre la reacción. Para una reacción simple, donde $\propto$ significa "proporcional a",

$$\text{Velocidad} \propto e^{-E_{act}/RT} \quad (11)$$

La energía de activación para la reacción que transcurre en la dirección opuesta a la que se dibuja es igual a $-\Delta G_D$.

NUMEROSOS FACTORES AFECTAN LA VELOCIDAD DE REACCIÓN

La **teoría cinética**, también llamada **teoría de colisión**, de la cinética química establece que para que dos moléculas reaccionen (1) deben acercarse dentro de la distancia de formación de enlaces entre sí, o "colisionar", y (2) deben poseer suficiente energía cinética para superar la barrera de energía para alcanzar el estado de transición. Por tanto, se deduce que las condiciones que tienden a aumentar la *frecuencia* o *energía* de colisión entre sustratos tenderán a aumentar la velocidad de la reacción en la que participan.

Temperatura

Elevar la temperatura ambiente aumenta la energía cinética de las moléculas. Como se ilustra en la **figura 8-2**, el número total de moléculas cuya energía cinética supera la barrera energética E_{act} (barra vertical) para la formación de productos aumenta desde temperaturas bajas (A) a intermedias (B) a altas (C). Aumentar la energía cinética de las moléculas también aumenta su rapidez de movimiento, y por tanto la frecuencia con la cual colisionan. Esta combinación de colisiones más frecuentes, más altamente energéticas, y por tanto productivas, aumenta la velocidad de reacción.

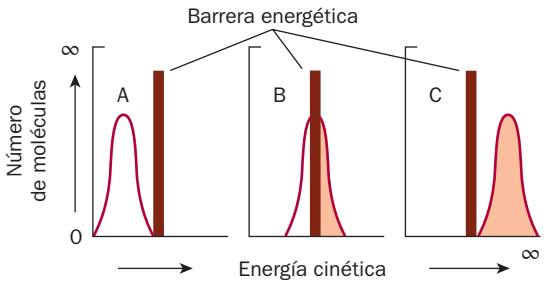


FIGURA 8-2 Representación de la barrera energética para las reacciones químicas (véase texto para su análisis).

Concentración del reactante

La frecuencia con la que colisionan las moléculas es directamente proporcional a sus concentraciones. Para dos moléculas diferentes A y B, la frecuencia con la que colisionan se duplicará si la concentración de A o B se duplica. Si las concentraciones tanto de A como de B se duplican, la probabilidad de colisión se multiplicará por cuatro.

Para una reacción química que se desarrolla a temperatura constante que involucra una molécula de A y B,

$$A + B \rightarrow P \tag{12}$$

la fracción de las moléculas que posee una energía cinética dada será una constante. El número de colisiones entre moléculas cuya energía cinética combinada es suficiente para producir el producto P, por tanto, será directamente proporcional al número de colisiones entre A y B, y por tanto a sus concentraciones molares, denotadas por los corchetes:

$$\text{Velocidad} \propto [A]\,[B] \tag{13}$$

Del mismo modo, para la reacción representada por

$$A + 2B \rightarrow P \tag{14}$$

que también se puede escribir como

$$A + B + B \rightarrow P \tag{15}$$

la expresión de velocidad correspondiente es

$$\text{Velocidad} \propto [A]\,[B]\,[B] \tag{16}$$

o

$$\text{Velocidad} \propto [A][B]^2 \tag{17}$$

Para el caso general, cuando las moléculas n de A reaccionan con las moléculas m de B,

$$nA + mB \rightarrow P \tag{18}$$

la expresión de velocidad es

$$\text{Velocidad} \propto [A]^n\,[B]^m \tag{19}$$

Reemplazar el signo de proporcionalidad con un signo igual a través de la introducción de una **constante de velocidad**, k, característica de la reacción en estudio da ecuaciones (20) y (21), en las cuales los subíndices 1 y –1 se refieren a las reacciones directa e inversa, respectivamente:

$$\text{Velocidad}_1 = k_1[A]^n[B]^m \tag{20}$$

$$\text{Velocidad}_{-1} = k_{-1}[P] \tag{21}$$

La suma de las relaciones molares de los reactivos define el **orden cinético** de la reacción. Analice la reacción (5). El coeficiente estequiométrico para el único reactante, A, es 2. Por tanto, la velocidad de producción de P es proporcional al cuadrado de [A] y se dice que la reacción es de *segundo orden* con respecto al reactante A. En este caso, la reacción global también es de *segundo orden*. Por tanto, k_1 se conoce como *constante de velocidad de segundo orden*.

La reacción (12) describe una reacción simple de segundo orden entre dos reactantes diferentes, A y B. El coeficiente estequiométrico para cada reactante es 1. Por tanto, aunque la reacción es de segundo orden, se dice que es de *primer orden* con respecto a A y de *primer orden* con respecto a B.

En el laboratorio, el orden cinético de una reacción con respecto a un reactante particular, denominado reactante variable o sustrato, se puede determinar manteniendo la concentración de los otros reactantes en gran exceso sobre el reactante variable. Bajo estas *condiciones de pseudoprimer orden*, la concentración del reactante "fijo" permanece virtualmente constante. Por tanto, la velocidad de reacción dependerá exclusivamente de la concentración del reactante variable, a veces también llamado reactante limitante. Los conceptos de orden de reacción y condiciones de pseudoprimer orden se aplican no sólo a las reacciones químicas simples, sino también a las reacciones catalizadas por enzimas.

K_{eq} es una relación de constantes de velocidad

Si bien todas las reacciones químicas son en cierta medida reversibles, en equilibrio las concentraciones *generales* de reactivos y productos permanecen constantes. En equilibrio, la velocidad de conversión de sustratos a productos, por tanto, es igual a la velocidad a la que los productos se convierten en sustratos:

$$\text{Velocidad}_1 = \text{Velocidad}_{-1} \tag{22}$$

Por tanto,

$$k_1 = [A]^n[B]^m = k_{-1}[P] \tag{23}$$

y

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[P]}{[A]^n[B]^m} \tag{24}$$

La relación de k_1 a k_{-1} es igual a la constante de equilibrio, K_{eq}. Deben tenerse en cuenta las siguientes propiedades importantes de un sistema en equilibrio.

1. La constante de equilibrio es una relación de las *constantes* de velocidad de reacción (no las *velocidades* de reacción).
2. En equilibrio, las *velocidades* de reacción (no las *constantes de velocidad*) de las reacciones hacia adelante y hacia atrás son iguales.
3. El valor numérico de la constante de equilibrio K_{eq} puede ser calculado a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio o de la relación k_1/k_{-1}.

4. El equilibrio es un estado *dinámico*. Aunque no hay cambio *neto* en la concentración de sustratos o productos, las moléculas de productos y sustratos individuales están continuamente interconvertidos. La interconvertibilidad puede ser probada añadiendo a un sistema en equilibrio un rastro de producto radioisotópico, que luego puede mostrarse para dar como resultado la apariencia de sustrato radiomarcado.

CINÉTICA DE LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Las enzimas reducen la barrera de la energía de activación para una reacción

Todas las enzimas aceleran las velocidades de reacción al disminuir ΔG_F para la formación de estados de transición. Sin embargo, pueden diferir en la forma en que esto se logra. Si bien la secuencia de etapas químicas en el sitio activo es paralela a las que se producen cuando los sustratos reaccionan en ausencia de un catalizador, **el entorno del sitio activo disminuye ΔG_F** estabilizando los intermedios del estado de transición. Para decirlo de otra manera, la enzima puede visualizarse como el enlace para el intermedio del estado de transición (véase figura 8-1) más estrechamente que para sustratos o productos. Como se analizó en el capítulo 7, la estabilización puede involucrar 1) grupos ácido-base adecuadamente posicionados para transferir protones hacia o desde el intermedio del estado de transición en desarrollo, 2) grupos cargados adecuadamente posicionados o iones metálicos que estabilizan las cargas en desarrollo, o 3) la imposición de la tensión estérica en sustratos para que su geometría se acerque a la del estado de transición. La proteasa del VIH (véase figura 7-6) ilustra la catálisis por una enzima que reduce la barrera de activación en parte mediante la estabilización de un intermedio del estado de transición.

La catálisis por enzimas que procede a través de un mecanismo de reacción única normalmente se produce cuando el estado intermedio de transición forma un enlace covalente con la enzima (**catálisis covalente**). El mecanismo catalítico de la serina proteasa quimiotripsina (véase figura 7-7) ilustra una enzima que utiliza la catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única que posee una E_{act} más favorable.

LAS ENZIMAS NO AFECTAN A K_{eq}

Mientras que las enzimas sufren modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre surgen sin cambios al finalizar la reacción. **La presencia de una enzima, por tanto, no tiene efecto sobre ΔG^0 para la reacción *global***, que es una función únicamente de los **estados inicial y final** de los reactantes. La ecuación (25) muestra la relación entre la constante de equilibrio para una reacción y el cambio estándar de energía libre para esa reacción:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \tag{25}$$

Este principio quizá se ilustra más fácilmente al incluir la presencia de la enzima (Enz) en el cálculo de la constante de equilibrio para una reacción catalizada por enzima:

$$A + B + Enz \rightleftarrows P + Q + Enz \tag{26}$$

Dado que la enzima en ambos lados de las flechas dobles está presente en igual cantidad y forma idéntica, la expresión para el equilibrio constante,

$$K_{eq} = \frac{[P][Q][Enz]}{[A][B][Enz]} \tag{27}$$

reduce a uno idéntico al de la reacción en *ausencia* de la enzima:

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \tag{28}$$

Por tanto, las enzimas no tienen efecto sobre K_{eq}.

MÚLTIPLES FACTORES AFECTAN LAS VELOCIDADES DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS

Temperatura

Incrementar la temperatura aumenta la velocidad tanto de las reacciones catalizadas por enzimas como de las no catalizadas, al acrecentar la energía cinética y la frecuencia de colisión de las moléculas que reaccionan. Sin embargo, la energía térmica también puede aumentar la flexión conformacional de la enzima a un punto que excede la barrera de energía para interrumpir las interacciones no covalentes que mantienen su estructura tridimensional. La cadena polipeptídica comienza a desplegarse, o **desnaturalizarse**, con una pérdida acompañante de la actividad catalítica. El rango de temperatura sobre el cual una enzima mantiene una conformación estable, catalíticamente competente depende de —y excede de manera moderada— la temperatura normal de las células en las cuales reside. Las enzimas de los humanos por lo general muestran estabilidad a temperaturas de hasta 45 a 55 °C. Por el contrario, las enzimas de los microorganismos termófilos que residen en las fuentes termales volcánicas o los respiraderos hidrotermales submarinos pueden ser estables en temperaturas hasta o incluso superiores a 100 °C.

El **coeficiente de temperatura (Q_{10})** es el factor por el cual la velocidad de un proceso biológico aumenta por un incremento de 10 °C en la temperatura. Para las temperaturas sobre las cuales las enzimas son estables, las velocidades de la mayoría de los procesos biológicos suelen duplicarse a 10 °C de aumento de la temperatura ($Q_{10} = 2$). Los cambios en las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas que acompañan a un aumento o disminución de la temperatura corporal constituyen una característica de supervivencia significativa para las formas de vida de "sangre fría", como los lagartos o los peces, cuyas temperaturas corporales están determinadas por el entorno externo. Sin embargo, para los mamíferos y otros organismos homeotérmicos, los cambios en las velocidades de reacción de las enzimas con la temperatura asumen una importancia fisiológica sólo en circunstancias como la fiebre o la hipotermia.

Concentración de iones de hidrógeno

La velocidad de casi todas las reacciones catalizadas por enzimas exhibe una dependencia significativa de la concentración de iones de hidrógeno. La mayoría de las enzimas intracelulares exhiben una actividad óptima en los valores de pH entre 5 y 9. La relación de la actividad para la concentración de iones de hidrógeno (véase **figura 8-3**) refleja el equilibrio entre la desnaturalización enzimática en un pH alto o bajo y los efectos sobre el estado cargado de la

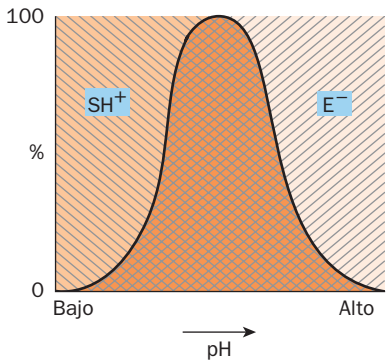


FIGURA 8-3 **Efecto del pH sobre la actividad enzimática.** Observe, por ejemplo, una enzima cargada negativamente (E^-) que se une a un sustrato cargado positivamente (SH^+). Se muestra la proporción (%) de SH^+ [\\\] y de E^- [///] como una función del pH. Sólo en el área sombreada tanto la enzima como el sustrato tienen una carga apropiada.

enzima, los sustratos, o ambos. Para las enzimas cuyo mecanismo involucra la catálisis ácido-base, los residuos involucrados deben estar en el estado apropiado de protonación para que la reacción continúe. La unión y el reconocimiento de las moléculas de sustrato con grupos disociables también implica típicamente la formación de puentes salinos con la enzima. Los grupos cargados más comunes son los carboxilato (negativo) y aminas protonadas (positivas). La ganancia o pérdida de grupos cargados esenciales afecta de modo adverso la unión al sustrato y, por tanto, retardará o anulará la catálisis.

LOS ANÁLISIS DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS MIDEN TÍPICAMENTE LA VELOCIDAD INICIAL

La mayoría de las mediciones de las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas emplean periodos relativamente cortos, condiciones que se consideran aproximadas a las **condiciones de la velocidad inicial**. Bajo estas condiciones, sólo se acumulan restos de producto, haciendo la velocidad de la reacción inversa insignificante. La **velocidad inicial (v_i)** de la reacción es, por tanto, esencialmente la de la velocidad de la reacción directa. Los análisis de la actividad enzimática emplean casi siempre un gran exceso de sustrato molar (10^3 a 10^6) sobre la enzima. Bajo estas condiciones, v_i es proporcional a la concentración de enzima, es decir, es pseudoprimer orden con respecto a la enzima. La medición de la velocidad inicial, por tanto, permite estimar la cantidad de enzima presente en una muestra biológica.

LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO AFECTA LA VELOCIDAD DE REACCIÓN

En lo que sigue, las reacciones enzimáticas se tratan como si sólo tuvieran un sustrato y un producto. Para enzimas con múltiples sustratos, los principios analizados a continuación se aplican con la misma validez. Además, al emplear condiciones de pseudoprimer

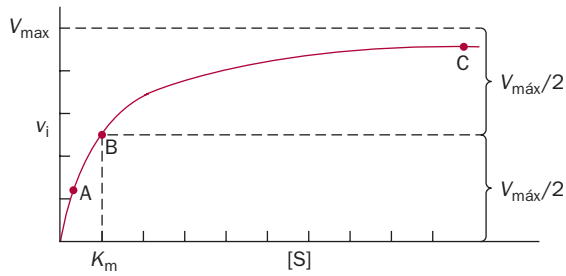


FIGURA 8-4 **Efecto de la concentración de sustrato en la velocidad inicial de una reacción catalizada por enzima.**

orden (véase antes), los científicos pueden estudiar la dependencia de la velocidad de reacción en un reactante individual a través de la opción apropiada de sustratos fijos y sustratos variables. En otras palabras, bajo condiciones de pseudoprimer orden el comportamiento de una enzima multisustrato imitará a uno que tiene un sustrato único. En este caso, sin embargo, la constante de velocidad observada será una función de la constante de velocidad k_1 para la reacción y de la concentración del sustrato fijo.

Para una enzima típica, a medida que aumenta la concentración del sustrato, v_i aumenta hasta que alcanza un valor máximo $V_{máx}$ (véase **figura 8-4**). Cuando los incrementos adicionales en la concentración de sustrato no aumentan v_i, se dice que la enzima está "saturada" con el sustrato. Obsérvese que la forma de la curva que relaciona la actividad con la concentración de sustrato (véase figura 8-4) es *hiperbólica*. En un instante dado, sólo las moléculas de sustrato que se combinan con la enzima como un complejo enzima-sustrato (ES, *enzyme-substrate*) pueden transformarse en un producto. Dado que la constante de equilibrio para la formación del complejo enzima-sustrato no es infinitamente grande, sólo una fracción de la enzima puede estar presente como un complejo ES aun cuando el sustrato está presente en un exceso considerable (véanse puntos A y B de la **figura 8-5**). En los puntos A o B, aumentando o disminuyendo [S], aumentará o disminuirá el número de complejos de ES con un cambio correspondiente en v_i. En el punto C (véase figura 8-5), sin embargo, esencialmente, toda la enzima está presente como el complejo ES. Ya que no permanece disponible ninguna enzima libre para formar ES, los incrementos adicionales en [S] no pueden aumentar la velocidad de la reacción. **Bajo estas condiciones de saturación, v_i depende únicamente de, y por tanto está limitada por, la rapidez con que el producto se disocia de la enzima para que pueda combinarse con más sustrato.**

LAS ECUACIONES DE MICHAELIS-MENTEN Y HILL MODELAN LOS EFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO

La ecuación de Michaelis-Menten

La ecuación de Michaelis-Menten (29) ilustra en términos matemáticos la relación entre la velocidad de reacción inicial v_i y la concentración de sustrato [S], que se muestra gráficamente en la figura 8-4:

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \qquad (29)$$

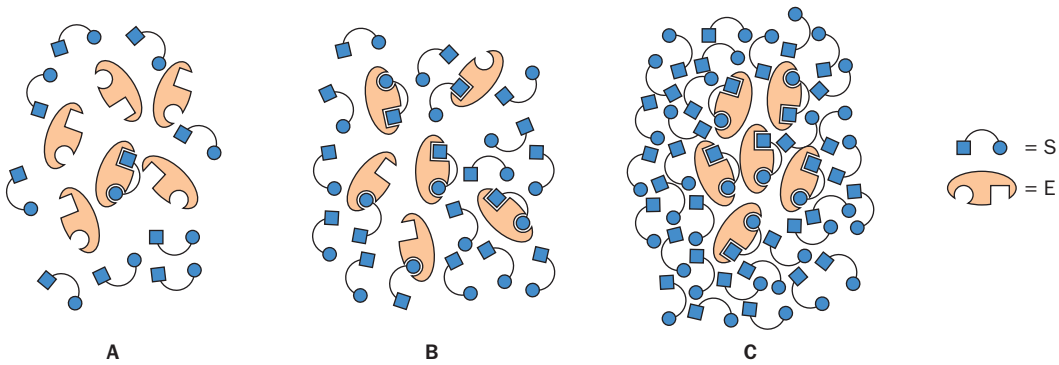


FIGURA 8-5 Representación de una enzima en presencia de una concentración de sustrato que está por debajo de K_m(A), en una concentración igual a K_m(B), y en una concentración muy por encima de K_m(C). Los puntos A, B y C corresponden a esos puntos en la figura 8-4.

La constante de Michaelis K_m es la concentración de sustrato en la cual v_i es la mitad de la velocidad máxima ($V_{máx}/2$) alcanzable a una concentración particular de la enzima. K_m tiene las dimensiones de la concentración de sustrato. La dependencia de la velocidad de reacción inicial en [S] y K_m puede ilustrarse mediante la evaluación de la ecuación de Michaelis-Menten bajo tres condiciones.

1. Cuando [S] es mucho menor que K_m (punto A en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es esencialmente igual a K_m. Reemplazando K_m + [S] con K_m reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{K_m} \approx \left(\frac{V_{máx}}{K_m}\right)[S] \tag{30}$$

donde ≈ significa "aproximadamente igual a". Desde que $V_{máx}$ y K_m son constantes, su relación es una constante. En otras palabras, cuando [S] está considerablemente por debajo de K_m, v_i es proporcional a k[S]. La velocidad de reacción inicial, por tanto, es directamente proporcional a [S].

2. Cuando [S] es mucho mayor que K_m (véase punto C en las figuras 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a [S]. Reemplazar K_m + [S] por [S] reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{[S]} \approx V_{máx} \tag{31}$$

Por tanto, cuando [S] excede en gran medida a K_m, la velocidad de reacción es máxima ($V_{máx}$) y no está afectada por aumentos adicionales en la concentración del sustrato.

3. Cuando [S] = K_m (punto B en las figuras 8-4 y 8-5):

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{máx}[S]}{2[S]} = \frac{V_{máx}}{2} \tag{32}$$

La ecuación (32) establece que cuando [S] es igual a K_m, la velocidad inicial es la mitad de la máxima. La ecuación (32) también revela que K_m es —y puede determinarse experimentalmente a partir de— la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es la mitad de la máxima.

Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se emplea para determinar K_m y $V_{máx}$

La medición directa del valor numérico de $V_{máx}$, y por tanto, el cálculo de K_m, a menudo requiere concentraciones de sustrato impracticablemente altas para lograr condiciones de saturación. Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten evita esta dificultad y permite a $V_{máx}$ y K_m extrapolarse de los datos de velocidad iniciales obtenidos a concentraciones de saturación menores que las del sustrato. Comience con la ecuación (29),

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

invierta

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{máx}[S]} \tag{33}$$

factor

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{máx}[S]} + \frac{[S]}{V_{máx}[S]} \tag{34}$$

y simplifique

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{máx}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}} \tag{35}$$

La ecuación (35) es para una línea recta, $y = ax + b$, donde $y = 1/v_i$ y $x = 1/[S]$. Un diagrama de $1/v_i$ como y como una función de $1/[S]$ como x, por tanto, da una línea recta cuya intersección y es $1/V_{máx}$ y cuya pendiente es $K_m/V_{máx}$. Esto se llama **diagrama doble recíproco** o de **Lineweaver-Burk** (véase **figura 8-6**). Estableciendo el término y de la ecuación (36) igual a cero y resolviendo para x revela que la intersección x es $-1/K_m$:

$$0 = ax + b; \quad \text{por tanto, } x = \frac{-b}{a} = \frac{-1}{K_m} \tag{36}$$

K_m se puede calcular a partir de la pendiente y la intersección y, pero es quizá más fácilmente calculado a partir de la intersección x negativa.

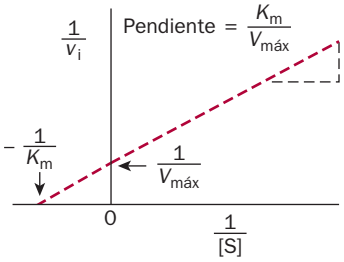


FIGURA 8-6 **Diagrama doble recíproco o de Lineweaver-Burk de $1/v_i$ *versus* 1/[S] usado para evaluar K_m y $V_{máx}$.**

La mayor virtud del diagrama Lineweaver-Burk reside en la facilidad con que puede ser utilizado para determinar el mecanismo cinético de un inhibidor enzimático (véase a continuación). Sin embargo, usar un diagrama doble recíproco para determinar las constantes cinéticas es importante para evitar la introducción de sesgo a través de la agrupación de datos a valores bajos de 1/[S]. Este sesgo puede evitarse fácilmente en el laboratorio de la siguiente manera. Prepare una solución de sustrato cuya dilución en un ensayo producirá la concentración máxima deseada del sustrato. Ahora prepare diluciones de la solución madre por factores de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, etc. Los datos generados usando volúmenes iguales de estas diluciones caerán entonces en el eje 1/[S] a intervalos igualmente espaciados de 1, 2, 3, 4, 5, etc. Un diagrama recíproco único como Eadie-Hofstee (v_i *vs.* v_i/[S]) o el diagrama Hanes-Woolf ([S]/v_i *vs.* [S]) también se puede usar para minimizar el agrupamiento de datos.

La constante catalítica, k_{cat}

Se pueden usar varios parámetros para comparar la actividad relativa de diferentes enzimas o de distintas preparaciones de la misma enzima. La actividad de las preparaciones enzimáticas impuras típicamente se expresa como una *actividad específica* ($V_{máx}$ dividida por la concentración de proteína). Para una enzima homogénea, es posible calcular su *número de recambio* ($V_{máx}$ dividida por los moles de enzima presente). Sin embargo, si se conoce el número de sitios activos presentes, la actividad catalítica de una enzima homogénea se expresa mejor como su *constante catalítica*, k_{cat} ($V_{máx}$ dividida por el número de sitios activos, S_t):

$$k_{cat} = \frac{V_{máx}}{S_t} \tag{37}$$

Como las unidades de concentración se cancelan, las unidades de k_{cat} tienen tiempo recíproco.

Eficiencia catalítica, k_{cat}/K_m

¿En qué medida debe cuantificarse y compararse la eficacia de diferentes enzimas, distintos sustratos para una enzima dada, y la eficiencia con la cual una enzima cataliza una reacción en direcciones de avance y retroceso? Mientras que la capacidad máxima de una enzima dada para convertir el sustrato en producto es importante, los beneficios de un alto k_{cat} sólo pueden ser realizados si K_m es suficientemente bajo. Por tanto, la *eficiencia catalítica* de las enzimas se expresa mejor en términos de la *relación* de estas dos constantes cinéticas, k_{cat}/K_m.

Para ciertas enzimas, una vez que el sustrato se une al sitio activo, se convierte en producto y se libera de modo tan rápido como para hacer estos eventos efectivamente instantáneos. Para estos catalizadores excepcionalmente eficientes, el paso limitante de la velocidad en la catálisis es la formación del complejo ES. Se dice que dichas enzimas están *limitadas por difusión*, o son perfectas desde el punto de vista catalítico, ya que la velocidad de catálisis más rápida posible está determinada por la velocidad a la que las moléculas se mueven o se difunden a través de la solución. Los ejemplos de enzimas para las cuales k_{cat}/K_m se aproxima al límite de difusión de 10^8 a 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ incluyen triosafosfato isomerasa, anhidrasa carbónica, acetilcolinesterasa y adenosina desaminasa.

En las células vivas, el ensamblaje de enzimas que catalizan reacciones sucesivas en complejos multiméricos pueden eludir las limitaciones impuestas por la difusión. Las relaciones geométricas de las enzimas en estos complejos son tales que los sustratos y productos no se difunden en la solución a granel hasta que se complete el último paso en la secuencia de pasos catalíticos. El ácido graso sintetasa amplía este concepto un paso más al unir de forma covalente la cadena de ácido graso de sustrato en crecimiento a una cadena de biotina que rota desde el sitio activo al sitio activo dentro del complejo, hasta que se complete la síntesis de una molécula de ácido palmítico (véase capítulo 23).

K_m puede aproximarse a una constante de unión

La afinidad de una enzima por su sustrato es la inversa de la constante de disociación K_d para la disociación del complejo de sustrato enzimático ES:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \tag{38}$$

$$K_d = \frac{k_{-1}}{k_1} \tag{39}$$

Dicho de otra manera, mientras la tendencia de la enzima y su sustrato para *disociarse* sea *menor*, *mayor* es la afinidad de la enzima por su sustrato. Mientras que la constante de Michaelis K_m a menudo se aproxima a la constante de disociación K_d, esto no debe ser asumido, porque de ningún modo es siempre el caso. Para una reacción catalizada por enzimas típicas:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \tag{40}$$

El valor de [S] que da $v_i = V_{máx}/2$ es

$$[S] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \tag{41}$$

Cuando $k_{-1} >> k_2$, entonces

$$k_{-1} + k_2 \approx k_{-1} \tag{42}$$

y

$$[S] \approx \frac{k_1}{k_{-1}} = K_d \tag{43}$$

Por tanto, $1/K_m$ sólo se aproxima a $1/K_d$ bajo condiciones donde la asociación y disociación del complejo ES son rápidas en relación

con la catálisis. Para las muchas reacciones catalizadas por enzimas para las cuales $k_{-1} + k_2$ **no** es aproximadamente igual a k_{-1}, $1/K_m$ subestimará $1/K_d$.

La ecuación de Hill describe el comportamiento de las enzimas que exhiben unión cooperativa de sustrato

Mientras que la mayoría de las enzimas muestran la **cinética de saturación** simple representada en la figura 8-4 y están adecuadamente descritas por la expresión de Michaelis-Menten, algunas enzimas unen sus sustratos de manera **cooperativa** análoga a la unión de oxígeno por hemoglobina (véase capítulo 6). El comportamiento cooperativo es una propiedad *exclusiva* de las enzimas multiméricas que se unen al sustrato en múltiples sitios.

Para las enzimas que muestran una cooperatividad positiva en la unión al sustrato, la forma de la curva que relaciona los cambios en v_i a los cambios en [S] es sigmoidal (véase **figura 8-7**). Ni la expresión de Michaelis-Menten ni sus diagramas derivados pueden ser utilizados para evaluar la cinética cooperativa. Los enzimólogos por tanto emplean una representación gráfica de la **ecuación de Hill** originalmente derivada para describir la unión cooperativa de O_2 por la hemoglobina. La ecuación (44) representa la ecuación de Hill arreglada en una forma que predice una línea recta, donde k' es una constante compleja:

$$\frac{\log v_i}{V_{máx} - v_i} = n \log[S] - \log k' \qquad (44)$$

La ecuación (44) establece que cuando [S] es bajo en relación con k', la velocidad inicial de reacción aumenta como la *enésima* potencia de [S].

Un gráfico de log $v_i/(V_{máx} - v_i)$ *versus* log[S] da una línea recta (véase **figura 8-8**). La pendiente de la línea, ***n***, es el **coeficiente de Hill**, un parámetro empírico cuyo valor es una función del número, el tipo y la fuerza de las interacciones de los sitios del sustrato múltiple en la enzima. Cuando $n = 1$, todos los sitios de unión se comportan de manera independiente y se observa el comportamiento cinético simple de Michaelis-Menten. Si n es mayor que 1,

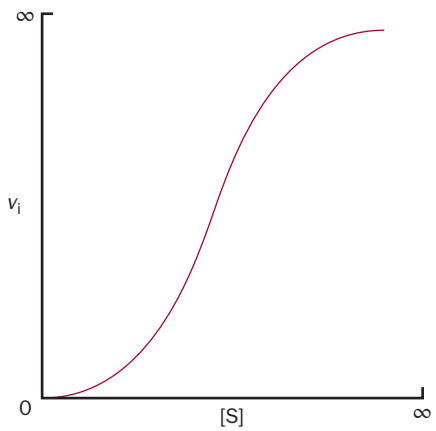


FIGURA 8-7 **Representación de la cinética de la saturación del sustrato sigmoide.**

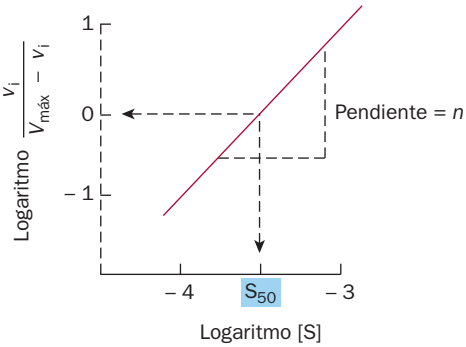


FIGURA 8-8 **Una representación gráfica de una forma lineal de la ecuación de Hill se usa para evaluar S_{50}, la concentración de sustrato que produce la velocidad media máxima y el grado de cooperatividad *n*.**

se dice que la enzima exhibe **cooperatividad positiva**. La unión del sustrato, por tanto, a un sitio potencia la afinidad de los sitios restantes para enlazar el sustrato adicional. Cuanto mayor es el valor de n, mayor es el grado de cooperatividad y más marcadamente sigmoidal será el diagrama de v_i *versus* [S]. Una perpendicular caída desde el punto donde el término y logaritmo $v_i/(V_{máx} - v_i)$ es cero intercepta el eje x a una concentración de sustrato denominada S_{50}, por tanto la concentración de sustrato que da como resultado la mitad de la velocidad máxima, S_{50}, es análoga al P_{50} para el oxígeno que se une a la hemoglobina (véase capítulo 6).

EL ANÁLISIS CINÉTICO DISTINGUE LA INHIBICIÓN COMPETITIVA DE LA NO COMPETITIVA

Los inhibidores de las actividades catalíticas de las enzimas proporcionan tanto agentes farmacológicos como herramientas de investigación para el estudio del mecanismo de acción enzimática. La fuerza de la interacción entre un inhibidor y una enzima depende de las fuerzas importantes en la estructura de la proteína y la unión del ligando (enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrófobas, y las fuerzas de Van der Waals; véase capítulo 5). Los inhibidores pueden ser clasificados en función de su sitio de acción sobre la enzima, en cuanto a si modifican químicamente la enzima, o en los parámetros cinéticos sobre los cuales influyen. Los compuestos que imitan el estado de transición de una reacción catalizada por enzimas (**análogos del estado de transición)** o que aprovechan la maquinaria catalítica de una enzima (**inhibidores basados en mecanismos**) pueden ser inhibidores potentes. Cinéticamente distinguimos dos clases de inhibidores basados en si el aumento de la concentración de sustrato supera o no la inhibición.

Los inhibidores competitivos típicamente se asemejan a los sustratos

Los efectos de los inhibidores competitivos se pueden superar elevando la concentración de sustrato. Más frecuentemente, en la inhibición competitiva, el inhibidor (**I**) se une a la porción de unión al sustrato del sitio activo bloqueando así el acceso del sustrato. Las

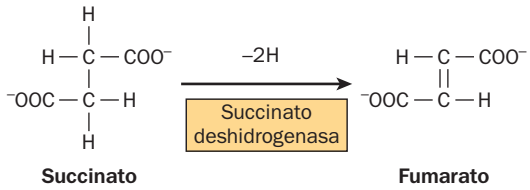


FIGURA 8-9 **La reacción succinato deshidrogenasa.**

estructuras de la mayoría de los inhibidores competitivos clásicos tienden a parecerse a la estructura de un sustrato y, por tanto, se denominan **análogos de sustrato**. La inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por malonato ilustra la inhibición competitiva por un sustrato análogo. La succinato deshidrogenasa cataliza la eliminación de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos carbonos de metileno del succinato (véase **figura 8-9**). Tanto el succinato como su análogo estructural malonato ($^-OOC—CH_2—COO^-$) pueden unirse al sitio activo de la succinato deshidrogenasa, formando un ES o un complejo EI, respectivamente. Sin embargo, dado que el malonato contiene sólo un carbono de metileno, no puede sufrir deshidrogenación.

La formación y disociación del complejo EI es un proceso dinámico descrito por

$$E - I \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} E + I \tag{45}$$

para lo cual la constante de equilibrio K_i es

$$K_i = \frac{[E][I]}{[E-I]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \tag{46}$$

En efecto, **un inhibidor competitivo actúa disminuyendo el número de moléculas de enzimas libres disponibles para unir el sustrato, es decir, para formar ES y, por tanto, eventualmente para formar un producto**, como aparece analizado a continuación.

Un inhibidor competitivo y el sustrato ejercen efectos recíprocos sobre la concentración de los complejos EI y ES. Ya que la formación de complejos de ES elimina la enzima libre disponible para combinarse con el inhibidor, el aumento de [S] *disminuye* la concentración del complejo EI y *aumenta* la velocidad de reacción. El grado en que [S] debe incrementarse para superar completamente la inhibición depende de la concentración del inhibidor presente, su afinidad por la enzima (K_i) y la afinidad K_m de la enzima para su sustrato.

Los diagramas dobles recíprocos facilitan la evaluación de los inhibidores

Los diagramas dobles recíprocos se usan típicamente para distinguir entre inhibidores competitivos y no competitivos y para simplificar la evaluación de las constantes de inhibición. La v_i está determinada en varias concentraciones de sustrato tanto en presencia como en ausencia del inhibidor. Para la inhibición competitiva clásica, las líneas que conectan el punto de datos experimental convergen en el eje y (véase **figura 8-10**). Como la intersección y es

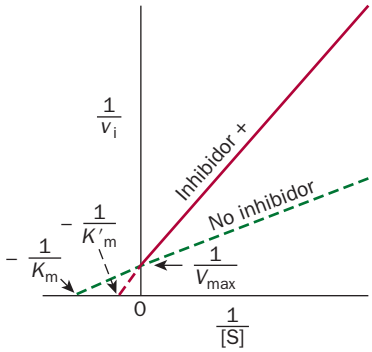


FIGURA 8-10 **Diagrama de Lineweaver-Burk de inhibición competitiva simple.** Observe el descenso completo de la inhibición en alta [S] (es decir, bajo 1/[S]).

igual a $1/V_{máx}$, este patrón indica que **cuando 1/[S] se aproxima a 0, v_i es independiente de la presencia del inhibidor**. Tenga en cuenta, sin embargo, que la intersección en el eje x *varía* con la concentración del inhibidor y que, dado que $-1/K'_m$ es menor que $-1/K_m$, K'_m (el "K_m aparente") se hace más grande en presencia de concentraciones crecientes del inhibidor. Por tanto, **un inhibidor competitivo no tiene efecto sobre $V_{máx}$ pero aumenta K'_m, la K_m aparente para el sustrato**. Para una inhibición competitiva simple, la intersección en el eje x es

$$x = \frac{-1}{K_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \tag{47}$$

Una vez que se ha determinado K_m en ausencia de inhibidor, K_i puede calcularse a partir de la ecuación (47). Los valores de K_i se usan para comparar diferentes inhibidores de la misma enzima. Cuanto menor es el valor de K_i, más eficaz es el inhibidor. Por ejemplo, las estatinas que actúan como inhibidores competitivos de 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa (véase capítulo 26) tienen valores K_i de varios órdenes de magnitud inferiores al K_m para el sustrato HMG-CoA.

Los inhibidores no competitivos simples disminuyen $V_{máx}$ pero no afectan K_m

En estricta inhibición no competitiva, la unión del inhibidor no afecta la unión del sustrato. La formación tanto de EI como de los complejos de sustrato inhibidor de enzima (EIS, *enzyme inhibitor substrate*) es, por tanto, posible. Sin embargo, mientras que el complejo enzima-inhibidor puede unir todavía el sustrato, su eficacia en la transformación del sustrato al producto, reflejado por $V_{máx}$, se reduce. Los inhibidores no competitivos se unen a las enzimas en sitios distintos del sitio de unión al sustrato y generalmente tienen poco o ningún parecido estructural al sustrato.

Para la inhibición no competitiva simple, E y EI poseen idéntica afinidad por el sustrato, y el complejo EIS genera producto a una velocidad insignificante (véase **figura 8-11**). La inhibición no competitiva compleja se produce cuando la unión del inhibidor *afecta* la aparente afinidad de la enzima por el sustrato, causando que las líneas se intercepten en el tercero o cuarto cuadrante de un diagra-

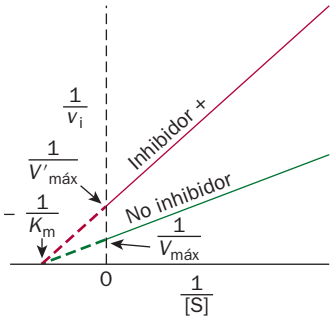


FIGURA 8-11 **Diagrama de Lineweaver-Burk para la inhibición no competitiva simple.**

ma doble recíproco (no se muestra). Mientras que ciertos inhibidores exhiben características de una mezcla de inhibición competitiva y no competitiva, la evaluación de estos inhibidores excede el alcance de este capítulo.

Diagrama Dixon

Un diagrama Dixon a veces se emplea como una alternativa al diagrama de Lineweaver-Burk para determinar las constantes de inhibición. La velocidad inicial (v_i) se mide en varias concentraciones del inhibidor, pero en una concentración fija del sustrato (S). Para un inhibidor competitivo o no competitivo simple, un diagrama de $1/v_i$ *versus* concentración de inhibidor [I] produce una línea recta. El experimento se repite a diferentes concentraciones fijas del sustrato. El conjunto resultante de líneas se cruza a la izquierda del eje *y*. Para la inhibición *competitiva*, una perpendicular que corta al eje *x* desde el punto de intersección de las líneas da $-K_i$ (véase **figura 8-12**, arriba). Para la inhibición *no competitiva*, la intersección en el eje *x* es $-K_i$ (véase **figura 8-12**, abajo). Las publicaciones farmacéuticas frecuentemente emplean diagramas de Dixon para ilustrar la potencia comparativa de los inhibidores competitivos.

IC_{50}

Una alternativa menos rigurosa al K_i como medida de potencia de inhibición es la concentración de inhibidor que produce inhibición de 50%, $\mathbf{IC_{50}}$. A diferencia de la constante de disociación de equilibrio K_i, el valor numérico de IC_{50} varía en función de las circunstancias específicas de la concentración de sustrato, etc., bajo el cual está determinado.

Inhibidores estrechamente ligados

Algunos inhibidores se unen a enzimas con una afinidad tan alta, $K_i \leq 10^{-9}$ M, que la concentración de inhibidor requerida para medir K_i cae por debajo de la concentración de enzima típicamente presente en una prueba. Bajo estas circunstancias, una fracción significativa del inhibidor total puede estar presente como un complejo EI. Si es así, esto contradice la suposición, implícita en la cinética de estado de equilibrio clásico, de que la concentración de inhibidor libre es independiente de la concentración de enzima. El análisis cinético de estos inhibidores fuertemente unidos requiere ecuaciones cinéticas especializadas que incorporen la concentración de enzima para estimar K_i o IC_{50} y para distinguir

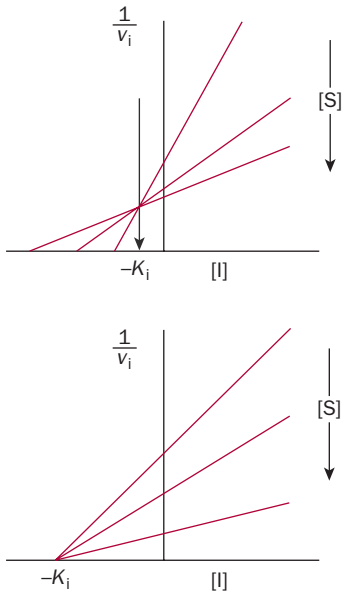


FIGURA 8-12 **Aplicaciones de diagramas de Dixon. Arriba:** Inhibición competitiva, estimación de K_i. **Abajo:** inhibición no competitiva, estimación de K_i.

los inhibidores fuertemente unidos competitivos de los no competitivos.

Enzimas "venenosas" de inhibidores irreversibles

En los ejemplos anteriores, los inhibidores forman un complejo disociable y dinámico con la enzima. Por tanto, la enzima completamente activa puede recuperarse de modo simple eliminando el inhibidor del medio circundante. Sin embargo, una variedad de otros inhibidores actúa *irreversiblemente* modificando la enzima desde el punto de vista químico. Estas modificaciones por lo general implican la creación o la ruptura de enlaces covalentes con restos de aminoacilos esenciales para la unión al sustrato, la catálisis o el mantenimiento de la conformación funcional de la enzima. Dado que estos cambios covalentes son relativamente estables, una enzima que ha sido "envenenada" por un inhibidor irreversible, tal como un átomo de metal pesado o un reactivo acilante, permanece inhibida incluso después de la eliminación del inhibidor remanente del medio circundante.

Inhibición basada en mecanismos

Los inhibidores "basados en mecanismos" o "suicidas" son análogos de sustratos especializados que contienen un grupo químico que puede ser transformado por la maquinaria catalítica de la enzima blanco. Después de unirse al sitio activo, la catálisis por la enzima genera un grupo altamente reactivo que forma un enlace covalente y **bloquea la función de un residuo catalíticamente esencial**. La especificidad y la persistencia de los inhibidores suicidas, que son tanto enzimáticos específicos como no reactivos fuera de los límites del sitio activo de la enzima, los convierte en pistas prometedoras para el desarrollo de fármacos específicos de enzimas. El análisis cinético de los inhibidores suicidas está más allá del alcance

de este capítulo. Los enfoques de Lineweaver-Burk y de Dixon no son aplicables, ya que los inhibidores suicidas infringen una condición de frontera clave común a ambos enfoques, a saber, que la actividad de la enzima no disminuye durante el transcurso de la prueba.

LA MAYORÍA DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS INVOLUCRAN DOS O MÁS SUSTRATOS

Si bien varias enzimas tienen un solo sustrato, muchas otras tienen dos y a veces más sustratos y productos. Los principios fundamentales analizados anteriormente, aunque ilustrados para enzimas de sustrato único, se aplican también a enzimas multisustratos. Las expresiones matemáticas utilizadas para evaluar las reacciones de múltiples sustratos son, sin embargo, complejas. Mientras que un análisis detallado de la gama completa de reacciones de multisustrato excede el alcance de este capítulo, algunos tipos comunes de comportamiento cinético para reacciones de dos productos y dos sustratos (denominadas reacciones "Bi-Bi") se consideran a continuación.

Reacciones de desplazamiento secuencial o simple

En las **reacciones secuenciales**, ambos sustratos deben combinarse con la enzima para formar un complejo ternario antes de que la catálisis pueda proceder (véase **figura 8-13**, arriba). Las reacciones secuenciales a veces se denominan reacciones de desplazamiento

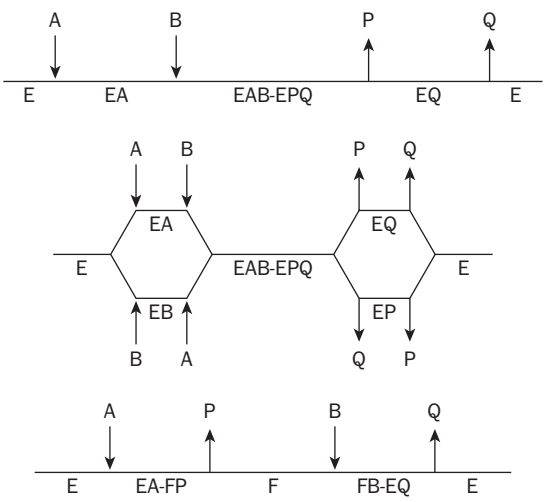


FIGURA 8-13 Representaciones de tres clases de mecanismos de reacción Bi-Bi. Las líneas horizontales representan la enzima. Las flechas indican la adición de sustratos y la salida de los productos. **Arriba:** una reacción de Bi-Bi ordenada, característica de muchas oxidorreductasas dependientes de NAD(P)H. **Centro:** una reacción aleatoria de Bi-Bi, característica de muchas cinasas y algunas deshidrogenasas. **Abajo:** una reacción de ping-pong, característica de aminotransferasas y serinas proteasas.

único porque el grupo que experimenta la transferencia generalmente se pasa de modo directo, en un solo paso, de un sustrato al otro. Las reacciones secuenciales de Bi-Bi se pueden distinguir aún más en función de si los dos sustratos se agregan en orden **aleatorio** u **obligatorio**. Para las reacciones de orden aleatorio, ya sea sustrato A o sustrato B, pueden combinarse primero con la enzima para formar un complejo EA o EB. (Véase **figura 8-13**, centro). Para las reacciones de orden obligatorio, Primero debe combinarse A con E antes de que B pueda combinarse con el complejo de EA. Una explicación de por qué algunas enzimas siguen un mecanismo de orden obligatorio se puede encontrar en la hipótesis de ajuste inducido de Koshland: la adición de A induce un cambio conformacional en la enzima que alinea los residuos que reconocen y se unen a B.

Reacciones de ping-pong

El término "**ping-pong**" se aplica a los mecanismos en los que uno o más productos se liberan de la enzima antes de que todos los sustratos hayan sido agregados. Las reacciones de ping-pong implican catálisis covalente y una forma transitoria y modificada de la enzima (véase figura 7-4). Las reacciones de ping-pong Bi-Bi a menudo son referidas como **reacciones de doble desplazamiento**. El grupo sometido a la transferencia es desplazado primero del sustrato A por la enzima para formar el producto P y una forma modificada de la enzima (F). El grupo subsecuente se transfiere de F al segundo sustrato B, formando el producto Q y regenerando E, lo cual constituye el segundo desplazamiento (véase **figura 8-13**, abajo).

La mayoría de las reacciones Bi-Bi se ajustan a la cinética de Michaelis-Menten

La mayoría de las reacciones Bi-Bi se ajustan a una forma algo más compleja de la cinética de Michaelis-Menten en la que $V_{máx}$ se refiere a la velocidad de reacción alcanzada cuando *ambos* sustratos están presentes a niveles de saturación. Cada sustrato tiene su propio valor K_m característico, que corresponde a la concentración que produce la velocidad media máxima cuando el segundo sustrato está presente a niveles de saturación. En cuanto a las reacciones de sustrato único, se pueden usar diagramas dobles recíprocos para determinar $V_{máx}$ y K_m. v_i es medida como una función de la concentración de un sustrato (el sustrato variable) mientras que la concentración del otro sustrato (el sustrato fijo) se mantiene constante. Si las líneas obtenidas para varias concentraciones de sustrato fijo se trazan en el mismo diagrama, es posible distinguir un mecanismo ping-pong, que produce líneas paralelas (véase **figura 8-14**), de un mecanismo secuencial, el cual produce un patrón de líneas que se intersecan (no se muestra).

Los **estudios de inhibición de productos** se utilizan para complementar los análisis cinéticos y para distinguir entre reacciones de Bi-Bi ordenadas y aleatorias. Por ejemplo, en una reacción Bi-Bi de orden aleatorio, cada producto actuará como un inhibidor competitivo en ausencia de sus coproductos, independientemente de qué sustrato es designado sustrato variable. Sin embargo, para un mecanismo secuencial (véase figura 8-13, arriba), sólo el producto Q dará el patrón indicativo de inhibición competitiva cuando A es el sustrato variable, mientras que sólo el producto P producirá este patrón con B como el sustrato variable. Las otras combinaciones de inhibidor de producto y sustrato variable producirán formas de inhibición no competitiva compleja.

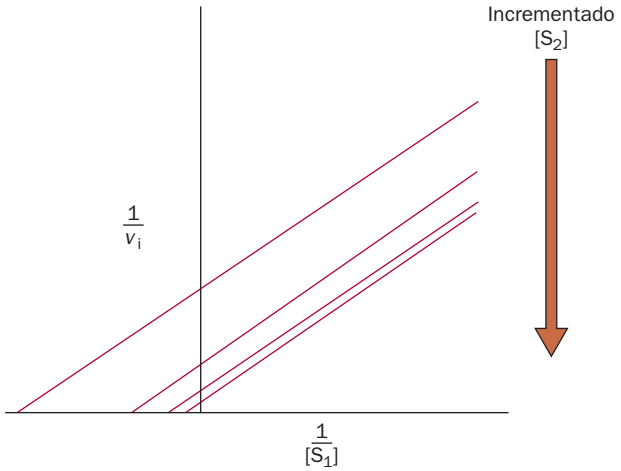


FIGURA 8-14 Diagrama de Lineweaver-Burk para la reacción de ping-pong de dos sustratos. Aumentando la concentración de un sustrato (S_1), mientras se mantiene constante la del otro sustrato (S_2), se alteran las intercepciones tanto de *x* como de *y*, pero no la pendiente.

EL CONOCIMIENTO DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA, SU MECANISMO E INHIBICIÓN FAVORECE EL DESARROLLO DE FÁRMACOS

Muchos fármacos actúan como inhibidores enzimáticos

El objetivo de la farmacología es identificar agentes que puedan:

1. Destruir o impedir el crecimiento, la invasividad o el desarrollo de invasores patógenos.
2. Estimular los mecanismos de defensa endógenos.
3. Detener o impedir procesos moleculares aberrantes desencadenados por estímulos genéticos, ambientales o biológicos con una perturbación mínima de las funciones celulares normales del huésped.

En virtud de sus diversos roles fisiológicos y el alto grado de selectividad del sustrato, las enzimas constituyen objetivos naturales para el desarrollo de agentes farmacológicos que son tanto potentes como específicos. Las estatinas, por ejemplo, reducen la producción de colesterol inhibiendo la enzima HMG-CoA reductasa (véase capítulo 26), mientras que la emtricitabina y el tenofovir disoproxil fumarato bloquean la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana inhibiendo la transcriptasa inversa viral (véase capítulo 34). El tratamiento farmacológico de la hipertensión a menudo incluye la administración de un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, lo que reduce el nivel de angiotensina II, un vasoconstrictor (véase capítulo 42).

La cinética enzimática define las condiciones de análisis apropiadas

La cinética enzimática desempeña un papel crucial en el descubrimiento de fármacos. El conocimiento del comportamiento cinético de la enzima de interés es necesario, ante todo, para seleccionar las condiciones de análisis apropiadas para detectar la presencia de un inhibidor. La concentración de sustrato, por ejemplo, debe ajustarse de manera que se genere suficiente producto para permitir la detección fácil de la actividad de la enzima sin ser tan alta que enmascare la presencia de un inhibidor. En segundo lugar, la cinética enzimática proporciona los medios para cuantificar y comparar la potencia de diferentes inhibidores y definir su modo de acción. Los inhibidores no competitivos son particularmente deseables, porque, a diferencia de los inhibidores competitivos, sus efectos nunca pueden superarse de modo completo mediante aumentos en la concentración de sustrato.

La mayoría de los fármacos están metabolizados *in vivo*

El desarrollo de fármacos a menudo implica más que la evaluación cinética de la interacción de inhibidores con la enzima blanco. Con el fin de minimizar su dosis efectiva y, por tanto, la posibilidad de efectos secundarios nocivos, un fármaco debe ser resistente a la degradación por las enzimas presentes en el paciente o por patógenos, un proceso denominado **metabolismo de fármacos**. Por ejemplo, la penicilina y otros antibióticos betalactámicos bloquean la síntesis de la pared celular en bacterias inactivando irreversiblemente la enzima alanil alanina carboxipeptidasa-transpeptidasa. Muchas bacterias, sin embargo, producen betalactamasas que hidrolizan la función de betalactama crítica en la penicilina y fármacos relacionados. Una estrategia para superar la resistencia a los antibióticos resultante es administrar simultáneamente un inhibidor de betalactamasa con un antibiótico betalactámico.

La transformación metabólica a veces se requiere para convertir un precursor de fármaco inactivo, o **profármaco**, en su forma biológicamente activa (véase capítulo 47). El ácido 2′-desoxi-5-fluorouridílico, un potente inhibidor de la timidilato sintasa, un blanco común de la quimioterapia contra el cáncer, se produce a partir del 5-fluorouracilo a través de una serie de transformaciones enzimáticas catalizadas por una fosforribosil transferasa y las enzimas de la vía de rescate de desoxirribonucleósidos (véase capítulo 33). El diseño efectivo y la administración de profármacos requieren el conocimiento de la cinética y los mecanismos de las enzimas responsables de su transformación en formas biológicamente activas.

RESUMEN

- El estudio de la cinética enzimática (los factores que afectan las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas) revela los pasos individuales a través de los cuales las enzimas transforman los sustratos en productos.
- ΔG, el cambio general en la energía libre para una reacción, es independiente del mecanismo de reacción y no proporciona información sobre las *velocidades* de las reacciones.
- K_{eq}, una relación de las *constantes de velocidad* de reacción, se puede calcular a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio o de la relación k_1/k_{-1}. Las enzimas *no* afectan a K_{eq}.
- Las reacciones transcurren a través de estados de transición, para cuya formación la energía de activación se refiere como ΔG_F. La temperatura, la concentración de iones de hidrógeno, la concentración de enzimas, la concentración de sustrato y los inhibidores afectan las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas.

- La medición de la velocidad de una reacción catalizada por enzimas generalmente emplea condiciones iniciales de velocidad, para las cuales la ausencia virtual de producto impide de manera efectiva que tenga lugar la reacción inversa.
- Las formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten simplifican la determinación de K_m y $V_{máx}$.
- Las formas lineales de la ecuación de Hill se usan para evaluar la cinética cooperativa de unión al sustrato exhibida por algunas enzimas multiméricas. La pendiente *n*, el coeficiente de Hill, refleja el número, la naturaleza y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión al sustrato. Un valor de *n* mayor que 1 indica cooperatividad positiva.
- Los efectos de los inhibidores competitivos simples, que típicamente se parecen a los sustratos, se superan aumentando la concentración del sustrato. Los inhibidores no competitivos simples bajan $V_{máx}$ pero no afectan K_m.
- Para inhibidores competitivos y no competitivos simples, la constante inhibidora K_i es igual a la constante de disociación para el complejo enzima-inhibidor relevante. Un término más simple y menos riguroso ampliamente utilizado en publicaciones farmacéuticas para evaluar la efectividad de un inhibidor es IC_{50}, la concentración de un inhibidor que produce 50% de inhibición bajo las circunstancias particulares de un experimento.
- Los sustratos pueden agregarse en un orden aleatorio (cualquiera de los sustratos puede combinarse primero con la enzima) o en un orden obligatorio (el sustrato A debe unirse antes que el sustrato B).
- En las reacciones de ping-pong, uno o más productos son liberados de la enzima antes de que se hayan agregado todos los sustratos.
- La cinética enzimática aplicada facilita la identificación, caracterización y elucidación del modo de acción de los fármacos que inhiben selectivamente enzimas específicas.
- La cinética enzimática desempeña un papel central en el análisis y la optimización del metabolismo farmacológico, un determinante clave de la eficacia del fármaco.

REFERENCIAS

Cook PF, Cleland WW. *Enzyme Kinetics and Mechanism*. Garland Science; 2007.

Copeland RA. *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery*. John Wiley & Sons; 2005.

Cornish-Bowden A. *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. Portland Press Ltd; 2004.

Dixon M. The graphical determination of K_m and K_i. *Biochem J* 1972;129:197.

Fersht A. *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*. Freeman; 1999.

Schramm, VL. Enzymatic transition-state theory and transitionstate analogue design. *J Biol Chem* 2007;282:28297.

Segel IH. *Enzyme Kinetics*. Wiley Interscience; 1975.

Wlodawer A. Rational approach to AIDS drug design through structural biology. *Annu Rev Med* 2002;53:595.

CAPÍTULO 9

Regulación de las actividades enzimáticas

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar el concepto de homeostasis de todo el cuerpo.
- Analizar por qué las concentraciones celulares de sustratos para la mayoría de las enzimas tienden a estar cerca de K_m.
- Enumerar los múltiples mecanismos a través de los cuales se logra el control activo del flujo de metabolitos.
- Indicar las ventajas de la síntesis de ciertas enzimas como proenzimas.
- Describir los cambios estructurales típicos que acompañan a la conversión de una proenzima a su forma activa.
- Indicar dos formas generales en que un efector alostérico puede influir en la actividad catalítica.
- Describir las funciones de las proteínas cinasas, las proteínas fosfatasas y segundos mensajeros en la regulación de los procesos metabólicos.
- Explicar cómo los requerimientos de sustrato de la lisina acetiltransferasa y sirtuinas pueden desencadenar cambios en el grado de acetilación de la lisina de las enzimas metabólicas.
- Describir dos formas a través de la cuales las redes reguladoras pueden conformarse en células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El fisiólogo del siglo XIX, Claude Bernard, enunció las bases conceptuales de la regulación metabólica. Él observó que los organismos vivos responden de formas cuantitativas y temporalmente apropiadas que les permiten sobrevivir a los múltiples desafíos planteados por los cambios en su entorno tanto interno como externo. Posteriormente, Walter Cannon acuñó el término "homeostasis", con el que describió la capacidad de los animales para mantener un entorno interno constante, a pesar de los cambios en su entorno externo. A nivel celular, la homeostasis se mantiene ajustando las velocidades de las reacciones metabólicas claves en respuesta a los cambios internos. Los ejemplos incluyen los niveles de intermediarios metabólicos clave, como 5'-AMP y NAD^+, o factores externos, como las hormonas que actúan a través de cascadas de transducción de señales controladas por receptores.

Los trastornos del mecanismo de respuesta del sensor responsable del mantenimiento del equilibrio homeostático pueden ser nocivos para la salud humana. El cáncer, la diabetes, la fibrosis quística y la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, se caracterizan por disfunciones regulatorias que se desencadenan por la interacción entre agentes patógenos, mutaciones genéticas, aporte nutricional y prácticas de estilo de vida. Muchos virus oncogénicos contribuyen al inicio del cáncer mediante la elaboración de proteína-tirosina cinasas que modifican las proteínas responsables de controlar los patrones de la expresión génica. La toxina del cólera producida por *Vibrio cholerae* desactiva las vías de respuesta del sensor en las células epiteliales intestinales, al catalizar la adición de ADP-ribosa a las proteínas de unión a GTP (proteínas G) que unen los receptores de la superficie celular a la adenilil ciclasa. La activación inducida por ADP-ribosa de la ciclasa conduce al flujo irrestricto de agua hacia los intestinos, lo que trae como resultado diarrea masiva y deshidratación. *Yersinia pestis*, el agente causante de la peste, elabora una proteína-tirosina fosfatasa que hidroliza los grupos fosforilo de las proteínas claves del citoesqueleto, lo que desactiva el mecanismo fagocítico de los macrófagos protectores. Se cree que las disfunciones en los sistemas proteolíticos responsables de la degradación de proteínas defectuosas o anormales desempeñan un papel en enfermedades neurodegenerativas como las de Alzheimer y de Parkinson.

Además de su función inmediata como reguladoras de la actividad enzimática, la degradación de proteínas, etc., las modificaciones covalentes como la fosforilación, la acetilación y la ubiquitinación proporcionan un código basado en proteínas para el almacenamiento y la transmisión de información (véase capítulo 35). Dicha información hereditaria independiente de DNA se denomina **epigenética**. El conocimiento de los factores que controlan las velocidades de reacciones catalizadas por enzimas es esencial para comprender las bases moleculares de la enfermedad y su transmisión. Este capítulo explica los mecanismos mediante los

cuales se controlan los procesos metabólicos y proporciona ejemplos ilustrativos. En los capítulos siguientes se añaden otros ejemplos.

LA REGULACIÓN DEL FLUJO METABÓLICO PUEDE SER ACTIVA O PASIVA

Las enzimas que operan a su velocidad máxima no pueden aumentar el rendimiento para adaptarse a las sobretensiones en la disponibilidad del sustrato, y reducirán su rendimiento sólo si la concentración del sustrato disminuye precipitadamente. Los valores K_m para la mayoría de las enzimas, por tanto, tienden a acercarse a la concentración intracelular promedio de sus sustratos, por lo que los cambios en la concentración del sustrato generan los cambios correspondientes en el flujo de metabolitos (véase **figura 9-1**). Las respuestas a los cambios en el nivel de sustrato representan un medio importante, pero *pasivo,* para coordinar el flujo de metabolitos. A continuación se analizan los mecanismos que regulan la eficacia de la enzima de manera *activa* en respuesta a las señales internas y externas.

El flujo de metabolitos tiende a ser unidireccional

A pesar de la presencia de oscilaciones a corto plazo en las concentraciones de metabolitos y niveles de enzimas, las células vivas existen en un estado dinámico constante, en el cual las concentraciones medias de los intermediarios metabólicos permanecen relativamente constantes a lo largo del tiempo. Si bien todas las reacciones químicas son, en cierta medida, reversibles, en las células vivas los productos de reacción de una reacción catalizada por enzimas sirven como sustratos y son eliminados por otras reacciones catalizadas por enzimas (véase **figura 9-2**). Bajo estas circunstancias, muchas reacciones nominalmente reversibles ocurren de forma unidireccional. Esta sucesión de reacciones acopladas catalizadas por enzimas se acompaña de un cambio *general* en la energía libre que favorece el flujo unidireccional de metabolitos análogo al flujo de agua, a través de un conducto en el que un extremo es más bajo que el otro. El flujo de agua a través del conducto permanece unidireccional, a pesar de la presencia de curvas o pliegues que simulan pasos con un cambio pequeño o, incluso, desfavorable en la

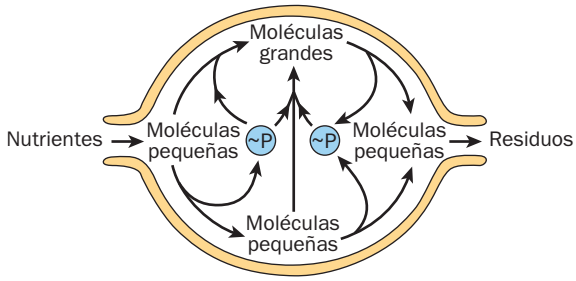


FIGURA 9-2 **Una célula idealizada en estado de equilibrio.** Obsérvese que el flujo metabólico es unidireccional.

energía libre, debido al cambio general en la altura, que corresponde al cambio general de la vía en la energía libre (véase **figura 9-3**).

LA COMPARTIMENTACIÓN GARANTIZA LA EFICIENCIA METABÓLICA Y SIMPLIFICA LA REGULACIÓN

En las células eucariotas, las vías anabólicas y catabólicas que sintetizan y descomponen las biomoléculas comunes a menudo están físicamente separadas unas de la otras. Ciertas vías metabólicas residen sólo dentro de tipos de células especializadas o dentro de compartimientos subcelulares separados. Por ejemplo, la biosíntesis de los ácidos grasos se produce en el citosol, mientras que la oxidación de los ácidos grasos ocurre dentro de las mitocondrias (véanse capítulos 22 y 23), entre tanto muchas enzimas degradativas están contenidas dentro de orgánulos llamados lisosomas. Además, las vías aparentemente antagónicas pueden coexistir en ausencia de barreras físicas, siempre que la termodinámica dicte que cada una de ellas proceda con la formación de uno o más *intermediarios únicos*. Para cualquier reacción o serie de reacciones, el cambio en la energía libre que tiene lugar cuando el flujo del metabolito transcurre en dirección "hacia adelante" es igual en magnitud, *pero en signo opuesto,* al requerido para proceder en la dirección "inversa". Algunas enzimas dentro de estas vías catalizan reacciones, como isomerizaciones, para las cuales la diferencia en energía libre entre sustratos y productos está cercana a cero. Estos catalizadores actúan de forma bidireccional, en dependencia de

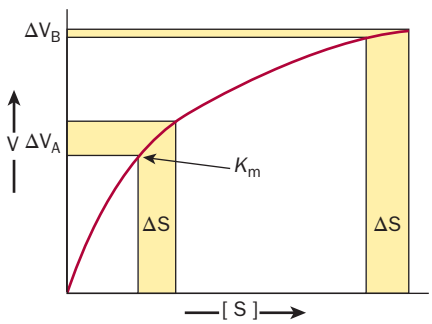


FIGURA 9-1 **Respuesta diferencial de la velocidad de una reacción catalizada por enzimas, Δ*V*, al mismo cambio incremental en la concentración de sustrato a una concentración de sustrato cercana a K_m (ΔV_A) o muy por encima de K_m (ΔV_B).**

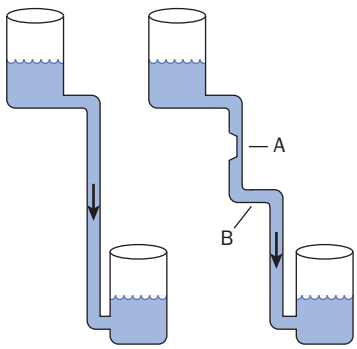


FIGURA 9-3 **Analogía hidrostática para una vía con un paso limitante de la velocidad (A) y un paso con un valor Δ*G* cercano a 0 (B).**

la relación de sustratos a productos. Sin embargo, prácticamente todas las vías metabólicas poseen uno o más pasos para los cuales ΔG es significativo. Por ejemplo, la glucólisis, la descomposición de la glucosa para formar dos moléculas de piruvato, tiene un ΔG global favorable de −96 kJ/mol, un valor demasiado grande para operar simplemente en "inverso" con el objetivo de convertir el exceso de piruvato en glucosa. En consecuencia, la gluconeogénesis procede a través de una vía en la que los tres pasos más desfavorecidos desde el punto de vista energético en la glucólisis se eluden con el uso de reacciones alternativas, termodinámicamente favorables, catalizadas por distintas enzimas (véase capítulo 19).

La capacidad de las enzimas para discriminar entre las coenzimas NAD^+ y $NADP^+$ estructuralmente similares también da como resultado una forma de compartimentación. Los potenciales de reducción de ambas coenzimas son similares. Sin embargo, la mayoría de las reacciones que genera electrones destinados a la cadena de transporte de electrones reducen el NAD^+, mientras que las enzimas que catalizan los pasos reductivos en muchas vías biosintéticas generalmente usan NADPH como donante de electrones.

Enzimas que limitan la velocidad como objetivos preferidos del control regulador

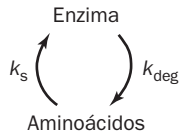
Mientras que el flujo de metabolitos a través de las vías metabólicas implica la catálisis por numerosas enzimas, el control activo de la homeostasis se logra mediante la regulación de sólo un subconjunto selecto de estas enzimas. La enzima ideal para la intervención regulatoria es aquella cuya cantidad o eficiencia catalítica dicta que la reacción que cataliza es lenta en relación con todas las demás en la vía. Disminuir la eficiencia catalítica o la cantidad del catalizador que participa en el "cuello de botella" o **reacción limitante de la velocidad** reducirá de inmediato el flujo de metabolitos a través de toda la vía. Por el contrario, un aumento en su cantidad o en la eficiencia catalítica provocará un incremento en el flujo a través de la vía como un todo. Como "reguladores" naturales del flujo metabólico, las enzimas que catalizan los pasos limitantes de la velocidad también constituyen objetivos farmacológicos prometedores. Por ejemplo, las estatinas reducen la síntesis de colesterol al inhibir HMG-CoA reductasa, catalizador de la reacción limitante de la colesterogénesis.

REGULACIÓN DE LA CANTIDAD DE ENZIMA

La capacidad catalítica total del paso limitante de la velocidad en una vía metabólica es el producto de la concentración de moléculas de enzima y su eficiencia catalítica intrínseca. Por tanto, la capacidad catalítica puede controlarse cambiando la cantidad de enzima presente, alterando su eficiencia catalítica intrínseca, o a través de una combinación de ambas acciones.

Las proteínas se sintetizan y degradan continuamente

Al medir las tasas de incorporación y la consiguiente pérdida de los aminoácidos marcados ^{15}N en las proteínas, Schoenheimer dedujo que estas existen en un estado de "equilibrio dinámico", donde se sintetizan y degradan continuamente, un proceso conocido como **recambio proteico**. Incluso las proteínas **constitutivas**, aquellas cuyas concentraciones agregadas permanecen esencialmente constantes a lo largo del tiempo, están sujetas a una rotación continua. Sin embargo, las concentraciones de muchas otras enzimas están sujetas a cambios dinámicos en respuesta a factores hormonales, dietéticos, patológicos, así como otros factores que pueden afectar las constantes de velocidad globales para su síntesis (k_s), degradación (k_{deg}) o ambas.



Control de la síntesis enzimática

La síntesis de ciertas enzimas depende de la presencia de **inductores**, por lo general sustratos o compuestos estructuralmente relacionados que estimulan la transcripción del gen que los codifica (véanse capítulos 36 y 37), o **factores de transcripción**. *Escherichia coli* cultivada en la glucosa, por ejemplo, sólo catabolizará la lactosa después de la adición de un β-galactósido, un inductor que desencadena la síntesis de una β-galactosidasa y una galactósido permeasa. Las enzimas inducibles de los humanos incluyen triptófano pirrolasa, treonina deshidratasa, tirosina-α-cetoglutarato aminotransferasa, enzimas del ciclo de la urea, HMG-CoA reductasa, Δ-aminolevulinato sintasa y citocromo P450. Por el contrario, un exceso de un metabolito puede reducir la síntesis de su enzima afín a través de la **represión**. Tanto la inducción como la represión involucran elementos *cis*, secuencias específicas de DNA ubicadas corriente arriba de los genes regulados y proteínas reguladoras que actúan como *trans*. Los mecanismos moleculares de inducción y represión se analizan en el capítulo 38. La actividad de los factores de transcripción, por otro lado, está controlada por las hormonas y por otras señales extracelulares y sus correspondientes receptores celulares. Información detallada sobre el control de la síntesis de proteínas en respuesta a los estímulos hormonales se puede encontrar en el capítulo 42.

Control de la degradación de enzimas

En los animales, muchas proteínas se degradan por la vía de la ubiquitina proteosoma. La degradación tiene lugar en el proteosoma 26S, un gran complejo macromolecular compuesto por más de 30 subunidades polipeptídicas dispuestas en forma de un cilindro hueco. Los sitios activos de sus subunidades proteolíticas cubren el interior del cilindro, evitando así la degradación indiscriminada de las proteínas celulares. Las proteínas se dirigen al interior del proteosoma mediante la unión covalente de una o más moléculas de ubiquitina, una proteína pequeña de alrededor de 8.5 kDa que está altamente conservada entre las células eucariotas. La "ubiquitinación" es catalizada por una gran familia de enzimas llamadas ligasas E3, que unen la ubiquitina al grupo amino de cadena lateral de residuos de lisilo en sus blancos.

La vía de la ubiquitina proteosoma es responsable tanto de la degradación regulada de proteínas celulares seleccionadas, por ejemplo, las ciclinas (véase capítulo 35), como de la eliminación de especies de proteínas defectuosas o aberrantes. La clave de la versatilidad y la selectividad del sistema ubiquitina-proteosoma reside en la variedad de ligasas E3 intracelulares y su capacidad para discriminar entre los diferentes estados físicos o conformacionales de las proteínas blancos. Por tanto, la vía de la ubiquitina proteosoma puede degradar selectivamente las proteínas cuya integridad física y competencia funcional se han visto comprometidas por la pérdida de o daño a un grupo prostético, oxidación de residuos de cisteí-

na o histidina, despliegue parcial o desamidación de residuos de asparagina o glutamina (véase capítulo 58). El reconocimiento por enzimas proteolíticas también puede regularse mediante modificaciones covalentes tales como fosforilación, unión de sustratos o efectores alostéricos, o asociación con membranas, oligonucleótidos u otras proteínas. Las disfunciones de la vía de la ubiquitina proteosoma a veces contribuyen a la acumulación y posterior agregación de proteínas mal plegadas, característica de varias enfermedades neurodegenerativas.

MÚLTIPLES OPCIONES ESTÁN DISPONIBLES PARA REGULAR LA ACTIVIDAD CATALÍTICA

En los humanos, la inducción de la síntesis de proteínas es un proceso complejo de varias etapas que normalmente requiere horas para producir cambios significativos en el nivel total de la enzima. Por otro lado, los cambios en la eficacia catalítica intrínseca, desencadenados por la unión de ligandos disociables (**regulación alostérica**) o por **modificación covalente,** ocurren en fracciones de segundos. En consecuencia, los cambios en el nivel de proteína, por lo general, dominan cuando se cumplen los requisitos de adaptación a largo plazo, mientras que los cambios en la eficiencia catalítica se favorecen por alteraciones rápidas y transitorias en el flujo de metabolitos.

LOS EFECTOS ALOSTÉRICOS REGULAN DETERMINADAS ENZIMAS

El principio rector de la regulación alostérica es que las propiedades del complejo enzima-efector difieren de las de la enzima y el efector separados. En algunos casos, el producto final de una vía biosintética de varios pasos se une a una enzima y la inhibe catalizando uno de los primeros pasos en esa vía, un proceso denominado regulación por retroalimentación. En la mayoría de los casos, los inhibidores por retroalimentación se unen a la enzima que cataliza el primer paso comprometido en una secuencia biosintética particular. En el siguiente ejemplo, la biosíntesis de D a partir de A es catalizada por enzimas Enz_1 a través de Enz_3:

$$\begin{matrix} Enz_1 & Enz_2 & Enz_3 \\ A \rightarrow & B \rightarrow & C \rightarrow D \end{matrix}$$

En ausencia del control regulatorio, si la célula ya no necesita el metabolito D, continuará acumulándolo hasta que se haya alcanzado el equilibrio. La acumulación resultante de C causa a su vez que B se acumule. La inhibición por retroalimentación proporciona una alternativa para, simplemente, permitir que la vía retroceda como una autopista en horario de congestión, al hacer que D se una a Enz_1 e inhibir la conversión de A a B. En este ejemplo, D actúa como un **efector alostérico negativo** de Enz_1. Normalmente, un inhibidor por retroalimentación como D se une en un **sitio alostérico**, uno distinto en cuanto al espacio del sitio catalítico de la enzima blanco. Los inhibidores por retroalimentación, por lo general, tienen poca o ninguna similitud estructural con los sustratos, por ejemplo, "A", de las enzimas que inhiben. NAD^+ y 3-fosfoglicerato, los sustratos para 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, los cuales catalizan el primer paso comprometido en la biosíntesis de serina, no se parecen al inhibidor por retroalimentación de la serina. En las vías

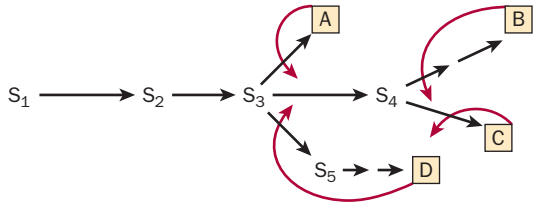


FIGURA 9-4 Sitios de inhibición por retroalimentación en una vía biosintética ramificada. S_1 a S_5 son intermediarios en la biosíntesis de los productos finales A a D. Las flechas rectas representan enzimas que catalizan las conversiones indicadas. Las flechas rojas curvas representan los circuitos de retroalimentación e indican los sitios de inhibición de la retroalimentación por productos finales específicos.

biosintéticas ramificadas, como las responsables de la síntesis de los nucleótidos (véase capítulo 33), las reacciones iniciales suministran los intermediarios requeridos para la síntesis de múltiples productos finales. La **figura 9-4** muestra una vía biosintética ramificada hipotética en la cual las flechas curvas parten de los inhibidores por retroalimentación hacia las enzimas cuya actividad inhiben. Las secuencias $S_3 \rightarrow A$, $S_4 \rightarrow B$, $S_4 \rightarrow C$, y $S_3 \rightarrow \rightarrow D$ representan secuencias de reacción lineales que son inhibidas por retroalimentación por sus productos finales. Las enzimas de los puntos de ramificación, por tanto, pueden dirigirse a etapas posteriores directas del flujo metabólico.

La cinética de la inhibición por retroalimentación puede ser competitiva, no competitiva, parcialmente competitiva o mixta. El establecimiento de múltiples circuitos de retroalimentación puede aportar un excelente control adicional. Por ejemplo, como muestra la **figura 9-5**, la presencia de exceso de producto B disminuye los requerimientos para el sustrato S_2. Sin embargo, S_2 se requiere también para la síntesis de A, C y D. Por consiguiente, para esta vía, el exceso de B restringe la síntesis de los cuatro productos finales restantes, independientemente de la necesidad de los otros tres. Para eludir esta dificulta potencial, cada producto final debe inhibir *parcialmente* la actividad catalítica. El efecto inhibitorio de dos o más productos finales en exceso puede ser estrictamente aditivo o, de manera alternativa, mayor que su efecto individual (inhibición por retroalimentación cooperativa). De manera alternativa, en la vía ramificada responsable por la síntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano en las bacterias, isoformas múltiples de una enzima desplegada, cada una de las cuales es

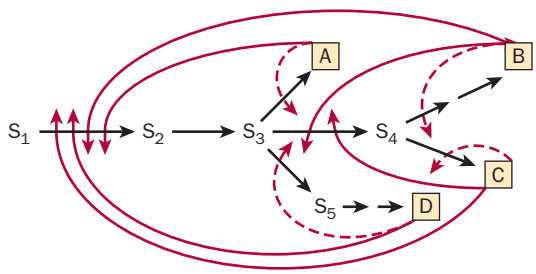


FIGURA 9-5 Inhibición por retroalimentación múltiple en una vía biosintética ramificada. Superpuestas sobre los circuitos de retroalimentación simple (flechas rojas discontinuas) aparecen los circuitos de retroalimentación múltiples (flechas rojas continuas) que regulan las enzimas comunes a la biosíntesis de varios productos finales.

sensible a un producto final de vía diferente. Los altos niveles de cualquier producto final inhibirán la catálisis por solamente una isoforma, reduciendo, pero no eliminando, el flujo a través de la porción compartida de la vía.

La aspartato transcarbamilasa es un modelo de enzima alostérica

La aspartato transcarbamilasa (ATCasa), el catalizador para la primera reacción única de la biosíntesis de pirimidina (véase figura 33-9), es un objetivo de la regulación por retroalimentación por dos nucleótidos trifosfatos: citidina trifosfato (CTP, *cytidine triphosphate*) y trifosfato de adenosina. CTP, un producto final de la vía biosintética de la pirimidina, inhibe la ATCasa, mientras que el nucleótido de purina ATP lo activa. Además, los altos niveles de ATP pueden superar la inhibición por CTP, permitiendo la síntesis de nucleótidos de *pirimidina,* para proceder cuando los niveles de nucleótidos de *purina* están elevados.

Los sitios alostéricos y catalíticos son espacialmente diferentes

Jacques Monod propuso la existencia de sitios alostéricos que son distintos, desde el punto de vista físico, del sitio catalítico. Él dedujo que la falta de similitud estructural entre la mayoría de los inhibidores de retroalimentación y sustrato(s) para las enzimas cuyas actividades ellos regulan, indicaba que estos efectores no son **isostéricos** con un sustrato, sino **alostéricos** ("ocupan otro espacio"). **Las enzimas alostéricas, por tanto, son aquellas para las cuales la catálisis en el sitio activo puede modularse por la presencia de efectores en un sitio alostérico.** La existencia de sitios alostéricos y activos espacialmente distintos se ha verificado desde entonces en varias enzimas usando muchas líneas de evidencia. Por ejemplo, la cristalografía de rayos X reveló que la ATCasa de *E. coli* consiste en seis subunidades catalíticas y seis subunidades reguladoras, las últimas de las cuales se unen a los nucleótidos trifosfatos que modulan la actividad. En general, la unión de un regulador alostérico influye en la catálisis al inducir un cambio conformacional que abarca el sitio activo.

Los efectos alostéricos pueden estar en K_m o en $V_{máx}$

Referirse a la cinética de la inhibición alostérica como "competitiva" o "no competitiva" con sustrato conlleva implicaciones mecanicistas engañosas. En su lugar, nos referimos a dos clases de enzimas reguladas alostéricamente: enzimas de la serie K y de la serie V. Para las enzimas alostéricas de la serie K, la cinética de saturación del sustrato es competitiva en el sentido de que K_m se incrementa sin un efecto sobre $V_{máx}$. Para las enzimas alostéricas de la serie V, el inhibidor alostérico disminuye $V_{máx}$ sin afectar K_m. Las alteraciones en K_m o $V_{máx}$ a menudo son el resultado de cambios conformacionales en el sitio catalítico inducidos por la unión del efector alostérico en su sitio. Para la enzima alostérica de la serie K, este cambio conformacional puede debilitar los enlaces entre el sustrato y los residuos de unión al sustrato. Para una enzima alostérica de la serie V, el efecto primario puede ser para alterar la orientación o la carga de residuos catalíticos, disminuyendo $V_{máx}$. Sin embargo, se pueden observar efectos intermedios en K_m y $V_{máx}$, como consecuencia de estos cambios conformacionales.

LA REGULACIÓN POR RETROALIMENTACIÓN PUEDE SER TANTO ESTIMULATORIA COMO INHIBITORIA

En las células de mamíferos y bacterias, los productos finales de algunas vías se "retroalimentan" para controlar su propia síntesis, en muchos casos mediante la inhibición por retroalimentación de una enzima biosintética temprana. Sin embargo, debemos distinguir entre la **regulación por retroalimentación**, un término fenomenológico desprovisto de implicaciones mecanicistas y la **inhibición por retroalimentación**, un mecanismo para la regulación de la actividad enzimática. Por ejemplo, mientras que el colesterol de la dieta disminuye la síntesis hepática de colesterol, esta **regulación** por retroalimentación no implica la **inhibición** por retroalimentación. La HMG-CoA reductasa, la enzima limitante de la velocidad de la colesterogénesis, se ve afectada, pero el colesterol no inhibe su actividad. Por el contrario, la regulación en respuesta al colesterol en la dieta implica la reducción del colesterol o un metabolito de colesterol de la expresión del gen que codifica HMG-CoA reductasa (represión enzimática) (véase capítulo 26). Como se mencionó anteriormente, el ATP, un producto de la vía de nucleótidos de purina, estimula la síntesis de nucleótidos de pirimidina mediante la activación de aspartato transcarbamilasa, un proceso que a veces se denomina regulación por "prealimentación".

MUCHAS HORMONAS ACTÚAN A TRAVÉS DE SEGUNDOS MENSAJEROS

Los impulsos nerviosos y la unión de muchas hormonas a los receptores de la superficie celular provocan cambios en la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas dentro de las células blanco induciendo la liberación o síntesis de efectores alostéricos especializados llamados **segundos mensajeros**. El mensajero primario, o "primero", es la molécula de la hormona o el impulso nervioso. Los segundos mensajeros incluyen 3', 5'-cAMP, sintetizados a partir de ATP por la enzima adenilil ciclasa en respuesta a la hormona epinefrina y Ca^{2+}, que se almacena en el interior del retículo endoplásmico de la mayoría de las células. La despolarización de la membrana como resultado de un impulso nervioso, abre un canal de membrana que libera iones de calcio en el citoplasma, donde se unen a y activan las enzimas involucradas en la regulación de la contracción muscular y la movilización de la glucosa almacenada del glucógeno, para abastecer las demandas incrementadas de energía de la contracción muscular. Otros segundos mensajeros incluyen 3', 5'-cGMP, óxido nítrico y los polifosfoinositoles producidos por la hidrólisis de fosfolípidos de inositol mediante fosfolipasas reguladas por hormonas. Ejemplos específicos de la participación de los segundos mensajeros en la regulación de procesos celulares pueden encontrarse en los capítulos 18, 42 y 50.

LAS MODIFICACIONES COVALENTES REGULADORAS PUEDEN SER REVERSIBLES O IRREVERSIBLES

En las células de los mamíferos ocurre una amplia gama de modificaciones covalentes reguladoras. La **proteólisis parcial** y la **fosfori-**

lación, por ejemplo, se emplean con frecuencia para regular la actividad catalítica de las enzimas. Por otra parte, las histonas y otras proteínas que se unen al DNA en la cromatina están sujetas a modificación extensa por **acetilación**, **metilación**, **ADP-ribosilación**, así como a fosforilación. Las últimas modificaciones que modulan la forma en la cual las proteínas dentro de la cromatina interactúan entre sí, así como con el DNA mismo, constituyen la base del "código de histonas". Los cambios resultantes en la estructura de la cromatina dentro de la región afectada pueden hacer que los genes sean más accesibles a las proteínas responsables de su transcripción, lo que mejora la expresión génica o, a una escala mayor, facilita la replicación del genoma completo (véase capítulo 38). Por otro lado, se dice que los cambios en la estructura de la cromatina que restringen la accesibilidad de los genes a los factores de transcripción, RNA dependiente de DNA polimerasa, etc., que inhiben la transcripción, **silencian** la expresión génica.

El código de histonas

El "código de histonas" representa un ejemplo clásico de **epigenética**, la transmisión hereditaria de información por un medio distinto de la secuencia de nucleótidos que componen el genoma. En este caso, el patrón de la expresión génica dentro de una célula "hija" recién formada se determinará, en parte, por el conjunto particular de modificaciones covalentes de histonas incorporadas en las proteínas de cromatina heredadas de la célula "parental".

Modificación covalente reversible

La acetilación, la ADP-ribosilación, la metilación y la fosforilación son todos ejemplos de modificaciones covalentes "reversibles". En este contexto, el término reversible se refiere al hecho de que la proteína modificada se puede restaurar a su estado original, libre de modificaciones, no al mecanismo por el cual ocurre la restauración. La termodinámica dicta que, si la reacción catalizada por enzimas mediante la cual se introdujo la modificación es termodinámicamente favorable, sólo al revertir el proceso se volverá irrealizable por el correspondiente cambio desfavorable de energía libre. La fosforilación de proteínas en residuos de serilo, treonilo o tirosilo, catalizada por proteínas cinasa, se favorece termodinámicamente como consecuencia de la utilización del grupo fosforilo gamma de alta energía de ATP. Los grupos fosfato se eliminan no mediante la recombinación del fosfato con ADP para formar ATP, sino a través de una reacción hidrolítica catalizada por enzimas llamadas proteínas fosfatasas. Del mismo modo, las acetiltransferasas emplean un sustrato donante de alta energía, NAD^+, mientras que las desacetilasas catalizan una hidrólisis directa que genera acetato libre.

LAS PROTEASAS PUEDEN SER SECRETADAS COMO PROENZIMAS INACTIVAS CATALÍTICAMENTE

Ciertas proteínas se sintetizan como precursoras inactivas conocidas como **proproteínas**. La proteólisis selectiva o "parcial" de una proproteína por uno o más "fragmentos" proteolíticos sucesivos la convierte en una forma que exhibe la actividad característica de la proteína madura, por ejemplo, su actividad catalítica. Las formas proproteínas de las enzimas se denominan **proenzimas** o **zimógenos**. Las proteínas sintetizadas como proproteínas incluyen la hormona insulina (proproteína = proinsulina), las enzimas digestivas pepsina, tripsina y quimotripsina (proproteínas = pepsinógeno, tripsinógeno y quimotripsinógeno, respectivamente), varios factores de la coagulación de la sangre y las cascadas del complemento (véanse capítulos 52 y 55), y el colágeno de la proteína del tejido conectivo (proproteína = procolágeno).

La activación proteolítica de proproteínas constituye una modificación fisiológicamente irreversible, debido a que la reunificación de las dos porciones de una proteína producida por hidrólisis de un enlace peptídico está desfavorecida en términos de entropía. Una vez que se activa una proproteína, continuará llevando a cabo sus funciones catalíticas o de otro tipo hasta que se elimine por degradación u otros medios. La activación de zimógeno representa, por tanto, un mecanismo simple y económico, aunque de una sola vía, para restringir la actividad latente de una proteína, hasta que se encuentren las circunstancias apropiadas. No es sorprendente, entonces, que la proteólisis parcial se emplee con frecuencia para regular proteínas que funcionan en el tracto gastrointestinal o en el torrente sanguíneo, en lugar del interior de las células.

Las proenzimas facilitan la movilización rápida de una actividad en respuesta a la demanda fisiológica

Ciertos procesos fisiológicos como la digestión, la formación de los coágulos sanguíneos y la remodelación tisular tienen lugar sobre una base intermitente, pero relativamente frecuente. Cada uno de estos procesos hace uso extensivo de las proteasas, que se sintetizan como proenzimas catalíticamente inactivas para proteger los tejidos de sus efectos degradativos. En la pancreatitis, la activación prematura de las proteasas digestivas como tripsinógeno y quimotripsinógeno conduce a la autodigestión de tejido sano, en vez de las proteínas ingeridas. La formación de coágulos sanguíneos, la disolución de coágulos y la reparación del tejido se lleva a cabo "en línea", sólo en respuesta a la apremiante necesidad fisiológica o fisiopatológica. Los zimógenos ofrecen una fuente lista y activada con rapidez de proteínas de coagulación, cuando la síntesis no es suficientemente rápida para responder a una apremiante demanda fisiopatológica como la pérdida de sangre (véase capítulo 55). Sin embargo, para evitar que la formación de coágulos se extienda más allá del sitio de la lesión, los procesos de formación y disolución sanguínea es evidente que deben coordinarse temporalmente.

La activación de proquimotripsina requiere proteólisis selectiva

La proteólisis selectiva involucra uno o más fragmentos proteolíticos altamente específicos que pueden o no estar acompañados por separación de los péptidos resultantes, pero generalmente desencadenan cambios conformacionales. Por ejemplo, en α-quimotripsina, los residuos catalíticamente esenciales His 57 y Asp 102 residen en el péptido B, mientras que Ser 195 reside en el péptido C (**figura 9-6**). La hidrólisis de los enlaces peptídicos clave en el quimotripsinógeno desencadena cambios conformacionales que alinean estos tres residuos de la red de retransmisión de carga (véase figura 7-7), formando el sitio catalítico. Tenga en cuenta también que los residuos de contacto y catalíticos pue-

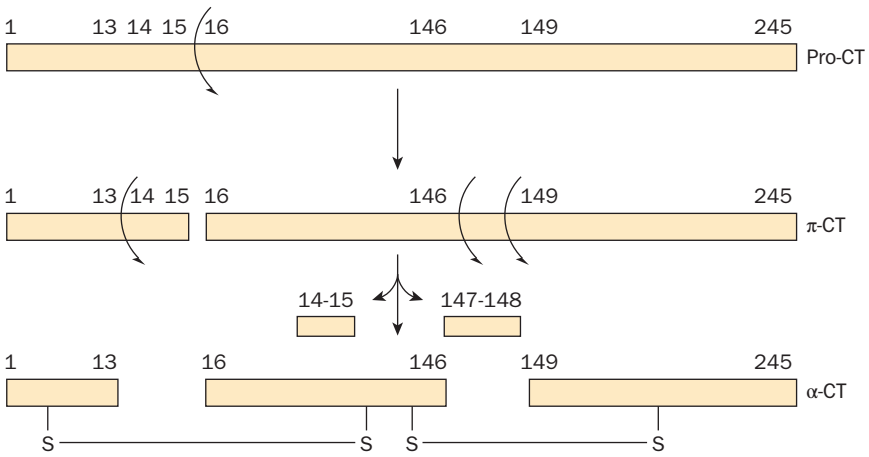


FIGURA 9-6 Representación bidimensional de la secuencia de eventos proteolíticos que finalmente dan como resultado la formación del sitio catalítico de la quimotripsina, que incluye la tríada catalítica Asp102-His57-Ser195 (véase figura 7-7). La proteólisis sucesiva forma proquimotripsina (pro-CT, *prochymotrypsin*), π-quimotripsina (π-Ct, π-*chymotrypsin*) y finalmente α-quimotripsina (α-CT, α-*chymotrypsin*), una proteasa activa cuyos tres péptidos (A, B, C) permanecen asociados por enlace disulfuro covalente intercatenario.

den estar localizados en diferentes cadenas peptídicas, pero aún estar dentro de la distancia de formación del enlace del sustrato unido.

LA MODIFICACIÓN REVERSIBLE COVALENTE REGULA LAS PROTEÍNAS CLAVE DE LOS MAMÍFEROS

Miles de proteínas de mamíferos son modificadas por la fosforilación covalente

Las proteínas de los mamíferos son el objetivo de una amplia gama de procesos de modificación covalentes. Modificaciones como la prenilación, la glucosilación, la hidroxilación y la acilación de ácidos grasos introducen características estructurales únicas en proteínas recién sintetizadas, que persisten durante la vida de la proteína. Algunas modificaciones covalentes regulan la función proteica. Las más comunes, por ahora, son fosforilación-desfosforilación y acetilación-desacetilación. Las **proteínas cinasas** fosforilan las proteínas catalizando la transferencia del grupo fosforilo terminal de ATP a los grupos hidroxilo de residuos de serilo, treonilo o tirosilo, formando residuos de *O*-fosfoserilo, *O*-fosfotreonilo u *O*-fosfotirosilo, respectivamente (véase **figura 9-7**). La forma no modificada de la proteína puede regenerarse mediante la eliminación hidrolítica de grupos fosforilos, una reacción termodinámicamente favorable catalizada por **proteínas fosfatasas**.

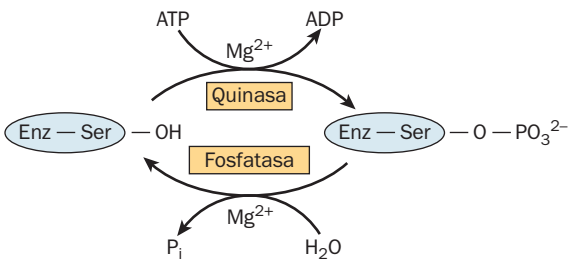


FIGURA 9-7 Modificación covalente de una enzima regulada por fosforilación-desfosforilación de un residuo de serilo.

Una célula típica de mamífero posee miles de proteínas fosforiladas y varios cientos de proteínas cinasas y proteínas fosfatasas que catalizan su interconversión. La facilidad de interconversión de las enzimas entre sus formas fosforilada y desfosforilada se explica, en parte, por la frecuencia con la que se utiliza la fosforilación-desfosforilación como un mecanismo para el control regulador. A diferencia de las modificaciones estructurales, la fosforilación covalente persiste sólo en la medida en que las propiedades funcionales afectadas de la proteína modificada sirven a una necesidad específica. Una vez que la necesidad ha pasado, la enzima se puede convertir de nuevo a su forma original, preparada para responder al siguiente estímulo. Un segundo factor subyacente al uso generalizado de la fosforilación-desfosforilación de proteínas radica en las propiedades químicas del propio grupo fosforilo. Para alterar las propiedades funcionales de una enzima, cualquier modificación de su estructura química debe influir en la configuración tridimensional de la proteína. La alta densidad de carga de los grupos fosforilo unidos a proteínas, generalmente –2 en pH fisiológico, su propensión a formar fuertes puentes salinos con residuos de arginilo y lisilo, y su alta y excepcional capacidad de unión al hidrógeno los convierte en agentes potentes para modificar la estructura y la función de la proteína. La fosforilación, por lo general, influye en la eficacia catalítica intrínseca de una enzima o en otras propiedades, al inducir cambios conformacionales. En consecuencia, los aminoácidos modificados por fosforilación pueden estar, y es típico que estén, relativamente distantes del sitio catalítico en sí.

Acetilación de proteínas: una modificación ubicua de las enzimas metabólicas

La acetilación-desacetilación covalente se ha asociado durante mucho tiempo con las histonas y otras proteínas nucleares. En los

últimos años, sin embargo, los estudios proteómicos han revelado que miles de otras proteínas de mamíferos están sujetas a modificación por acetilación covalente, incluyendo casi todas las enzimas en vías metabólicas centrales, como la glucólisis, la síntesis de glucógeno, la gluconeogénesis, el ciclo del ácido tricarboxílico, la β-oxidación de ácidos grasos y el ciclo de la urea. El posible impacto regulatorio de la acetilación-desacetilación se ha establecido sólo para un puñado de estas proteínas. Sin embargo, incluyen muchas enzimas importantes metabólicamente, como acetil-CoA sintetasa, acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga, malato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa, glutamato deshidrogenasa, carbamoil fosfato sintetasa y ornitina transcarbamilasa.

La **lisina acetiltransferasa** cataliza la transferencia del grupo acetilo de acetil-CoA a los grupos ε-amino de residuos lisilo, formando *N*-acetil lisina. Además, algunas proteínas, en particular las de las mitocondrias, se acetilan al reaccionar directamente con acetil-CoA, es decir, sin la intervención de un catalizador enzimático. La acetilación no sólo incrementa el volumen estérico de la cadena lateral de lisina, sino que transforma una amina primaria básica y en potencia cargada positivamente en una amida neutral, no ionizable. Dos clases de proteína desacetilasas se han identificado: **histonas desacetilasas** y **sirtuinas**. Las histonas desacetilasas catalizan la eliminación de los grupos acetilo a través de hidrólisis, regenerando la forma no modificada de la proteína y el acetato como productos. Las sirtuinas, por otro lado, usan NAD^+ como sustrato, que produce *O*-acetil ADP-ribosa y nicotinamida como productos, además de la proteína no modificada.

Las modificaciones covalentes regulan el flujo metabólico

En muchos aspectos, los sitios de fosforilación de proteínas, la acetilación y otras modificaciones covalentes se pueden considerar otras formas de sitios alostéricos. Sin embargo, en este caso, el "ligando alostérico" se une covalentemente a la proteína. La fosforilación-desfosforilación, la acetilación-desacetilación y la inhibición por retroalimentación proporcionan una regulación a corto plazo, fácilmente reversible, del flujo de metabolitos en respuesta a señales fisiológicas específicas. Las tres actúan con independencia de los cambios en la expresión génica. Al igual que con la inhibición por retroalimentación, la fosforilación-desfosforilación de proteínas generalmente se dirige a una enzima inicial en una vía metabólica prolongada. La inhibición por retroalimentación, sin embargo, implica una proteína única que está influida de manera indirecta, si acaso, por señales hormonales o neuronales. Por el contrario, la regulación de enzimas de mamíferos por fosforilación-desfosforilación involucra una o más proteínas cinasas y proteínas fosfatasas, y está, por lo general, bajo control neural y hormonal directo.

La acetilación-desacetilación, por otro lado, se dirige a múltiples proteínas en una vía. Se ha formulado la hipótesis de que el grado de acetilación de las enzimas metabólicas se modula a un grado alto por el estado energético de la célula. Bajo este modelo, los altos niveles de acetil-CoA (el sustrato para lisinas acetiltransferasas y el reactante en la acetilación de lisina no enzimática) presentes en una célula bien alimentada promoverían la acetilación de la lisina. Cuando faltan nutrientes, los niveles de acetil-CoA descienden y la proporción de NAD^+/NADH aumenta, favoreciendo la desacetilación de la proteína.

LA FOSFORILACIÓN PROTEICA ES EXTREMADAMENTE VERSÁTIL

La fosforilación-desfosforilación de proteínas es un proceso altamente selectivo y versátil. No todas las proteínas están sujetas a la fosforilación, y de los muchos grupos hidroxilo en la superficie de una proteína, sólo uno o un pequeño subconjunto es elegido como blanco. Mientras la función proteínica más común afectada es la eficacia catalítica de una enzima, la fosforilación también puede alterar su ubicación dentro de la célula, la susceptibilidad a la degradación proteolítica o la capacidad de respuesta a la regulación por ligandos alostéricos. Mientras que la fosforilación de algunas aumenta su actividad catalítica, la forma fosforilada de otras enzimas puede ser catalíticamente inactiva (véase **cuadro 9-1**).

Muchas proteínas se pueden fosforilar en múltiples sitios. Otras están sujetas a regulación tanto por fosforilación-desfosforilación, como por la unión de ligandos alostéricos, o por fosforilación-desfosforilación y otra modificación covalente. La fosforilación-desfosforilación en cualquier sitio puede ser catalizada por múltiples proteínas cinasas o proteínas fosfatasas. Muchas proteínas cinasas y la mayoría de las proteínas fosfatasas actúan sobre más de una proteína y se interconvierten en sí mismas entre formas activas e inactivas mediante la unión de segundos mensajeros o mediante modificación covalente por fosforilación-desfosforilación.

La interacción entre las proteínas cinasas y las proteínas fosfatasas, entre las consecuencias funcionales de la fosforilación en diferentes sitios, entre sitios de fosforilación y sitios alostéricos, o entre sitios de fosforilación y otros sitios de modificación covalente proporciona las bases para las redes reguladoras que integran múltiples entradas, con el fin de evocar una respuesta celular coordinada apropiada. En estas redes reguladoras sofisticadas las enzimas individuales responden a diferentes señales internas y ambientales. Por ejemplo, si una enzima puede ser fosforilada en un solo sitio por más de una proteína cinasa, se puede convertir de una forma catalíticamente eficiente a una forma ineficiente (inactiva), o viceversa, en respuesta a alguna de las diversas señales. Si la proteína cinasas es activada en respuesta a una señal diferente de la señal que activa la proteína fosfatasa, la fosfoproteína se convierte en un *nodo de decisión*, cuyo rendimiento funcional,

CUADRO 9-1 Ejemplos de enzimas de mamíferos cuya actividad catalítica está alterada por fosforilación-desfosforilación covalente

	Estado de actividad	
Enzima	**Bajo**	**Alto**
Acetil-CoA carboxilasa	EP	E
Glucógeno sintasa	EP	E
Piruvato deshidrogenasa	EP	E
HMG-CoA reductasa	EP	E
Glucógeno fosforilasa	E	EP
Citrato liasa	E	EP
Fosforilasa b cinasa	E	EP
HMG-CoA reductasa cinasa	E	EP

Abreviaturas: E: defosfoenzima; EP: fosfoenzima.

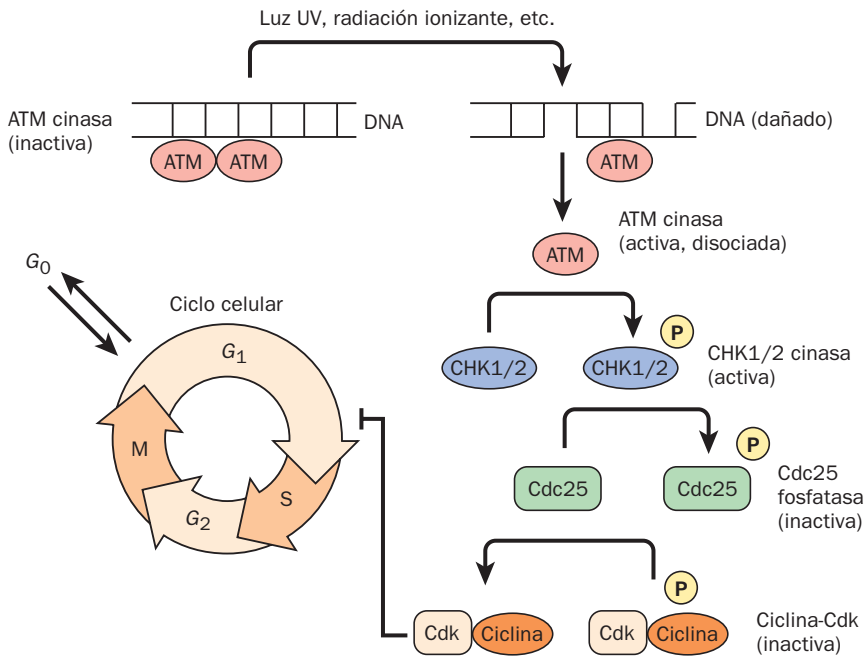


FIGURA 9-8 Una representación simplificada del punto de control G_1 a S del ciclo de células eucariotas. El círculo muestra las diferentes etapas en el ciclo de las células eucariotas. El genoma se replica durante la fase S, mientras que las dos copias del genoma se segregan y se produce la división celular durante la fase M. Cada una de estas fases está separada por una fase *G*, o de crecimiento, caracterizada por un aumento en el tamaño de la célula y la acumulación de los precursores que se requieren para el ensamblaje de los grandes complejos macromoleculares formados durante las fases S y M.

generalmente actividad catalítica, refleja su estado de fosforilación. Este estado o grado de fosforilación está determinado por las actividades relativas de la proteína cinasa y la proteína fosfatasa, un reflejo de la presencia y la fuerza relativa de las señales ambientales que actúan a través de cada actividad.

La habilidad de muchas proteínas cinasas y proteínas fosfatasas para dirigirse a más de una proteína proporciona un medio para una señal ambiental con el fin de regular de forma coordinada múltiples procesos metabólicos. Por ejemplo, las enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa y acetil-CoA carboxilasa, enzimas que controlan la velocidad para la biosíntesis del colesterol y de los ácidos grasos, respectivamente, se fosforilan e inactivan mediante la proteína cinasa activada por AMP. Cuando esta proteína cinasa se activa a través de la fosforilación por otra proteína cinasa o en respuesta a la unión de su activador alostérico 5'-AMP, se inhiben las dos vías principales responsables de la síntesis de lípidos a partir de acetil-CoA.

LOS EVENTOS REGULADORES INDIVIDUALES SE COMBINAN PARA FORMAR REDES DE CONTROL SOFISTICADAS

Las células llevan a cabo una compleja serie de procesos metabólicos que deben ser regulados en respuesta a un amplio espectro de factores internos y externos. Por consiguiente, las enzimas interconvertibles y las enzimas responsables de su interconversión actúan, no como interruptores aislados de "encendido" y "apagado", sino como elementos binarios dentro de redes de procesamiento de información biomolecular integradas.

Un ejemplo bien estudiado de esta red es el ciclo celular eucariota que controla la división celular. Al surgir desde el estado G_0 o inactivo, el proceso extremadamente complejo de la división celular transcurre a través de una serie de fases específicas designadas G_1, S, G_2 y M (véase **figura 9-8**). Los sistemas de monitorización elaborados, llamados **puntos de control**, evalúan indicadores clave de progreso para asegurar que no se inicie ninguna fase del ciclo hasta que la fase anterior esté completa. La figura 9-8 ilustra, de forma simplificada, el punto de control que controla el inicio de la replicación del DNA, llamada fase S. Una proteína cinasa llamada ATM está asociada con el genoma. ATM se une y se activa por regiones de roturas bicatenarias que contienen cromatina en el DNA. Tras la activación, una subunidad del dímero ATM activado se disocia e inicia una serie, o cascada, de eventos de fosforilación-desfosforilación de proteínas mediados por las proteínas cinasa CHK1 y CHK2, la proteína fosfatasa Cdc25 y, finalmente, un complejo entre una ciclina y una proteína cinasa dependiente de ciclina o Cdk (*cyclin-dependent protein kinase*). La activación del complejo Cdk-ciclina bloquea la transición G_1 a S, evitando así la replicación del DNA dañado. El fracaso en este punto de control puede conducir a mutaciones en el DNA que pueden provocar cáncer u otras enfermedades. Cada paso en la cascada proporciona un conducto para monitorizar indicadores adicionales del estado celular antes de ingresar a la fase S.

RESUMEN

- La homeostasis implica mantener un entorno intracelular e intraórgano constante, a pesar de las grandes fluctuaciones en el ambiente externo. Esto se logra a través de cambios apropiados en las velocidades de las reacciones bioquímicas en respuesta a la necesidad fisiológica.
- Los sustratos para la mayoría de las enzimas generalmente están presentes en una concentración cercana a su K_m. Esto facilita los ajustes pasivos a las velocidades de formación de productos en respuesta a los cambios en los niveles de intermediarios metabólicos.
- La mayoría de los mecanismos de control metabólico se dirigen a las enzimas que catalizan una reacción inicial, comprometida y que limita la velocidad. El control se puede ejercer variando la concentración de la proteína blanco, su eficiencia funcional, o alguna combinación de ambas acciones.
- La secreción de proenzimas o zimógenos inactivos facilita la movilización rápida de la actividad a través de proteólisis parcial en respuesta a una lesión o necesidad fisiológica, mientras protege el tejido de origen (p. ej., autodigestión por proteasas).
- La unión de metabolitos y segundos mensajeros a sitios distintos de los sitios catalíticos de las enzimas desencadena cambios conformacionales que alteran $V_{máx}$ o K_m.
- La fosforilación por proteínas cinasas de residuos específicos de serilo, treonilo o tirosilo, y la posterior desfosforilación por proteínas fosfatasas regulan la actividad de muchas enzimas humanas en respuesta a las señales hormonales y neurales.
- Numerosas enzimas metabólicas son modificadas por la acetilación-desacetilación de residuos de lisina. Se piensa que el nivel de acetilación de estas proteínas está modulado por la disponibilidad de acetil-CoA, el sustrato donante de acetilo para lisina acetiltransferasas, y NAD^+, un sustrato para las sirtuinas desacetilasas.
- La capacidad de las proteínas cinasas, proteínas fosfatasas, lisinas acetilasas y lisinas desacetilasas, para dirigirse tanto a las proteínas múltiples como a los sitios múltiples en las proteínas, es clave para la formación de redes reguladoras integradas que procesan información ambiental compleja con el fin de producir una respuesta celular apropiada.

REFERENCIAS

Baeza J, Smallegan MJ, Denu JM. Mechanisms and dynamics of protein acetylation in mitochondria. *Trends Biochem Sci* 2016;41:231.

Bett JS. Proteostasis regulation by the ubiquitin system. *Essays Biochem* 2016;60:143.

Dokholyan NV. Controlling allosteric networks in proteins. *Chem Rev* 2016;116:6463.

Elgin SC, Reuter G. In: Allis CD, Jenuwein T, Reinberg D, *et al.* (eds.). *Epigenetics.* Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2007.

Johnson LN, Lewis RJ. Structural basis for control by phosphorylation. *Chem Rev* 2001;101:2209.

Muoio DM, Newgard CB. Obesity-related derangements in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem* 2006;75:403.

Tu BP, Kudlicki A, Rowicka M, *et al*. Logic of the yeast metabolic cycle: temporal compartmentalization of cellular processes. *Science* 2005;310:1152.

CAPÍTULO 10

Los roles bioquímicos de los metales de transición

Peter J. Kennelly, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar por qué los metales de transición esenciales se conocen a menudo como micronutrientes.
- Comprender la importancia de la multivalencia en la capacidad de los metales de transición para participar en el transporte de electrones y las reacciones de oxidación-reducción.
- Comprender cómo los ácidos de Lewis y Bronsted-Lowry son diferentes.
- Definir el término complejo cuando se refiere a los iones metálicos.
- Dar una razón de por qué el zinc es un grupo prostético común en enzimas que catalizan reacciones hidrolíticas.
- Enumerar cuatro beneficios obtenidos incorporando metales de transición en complejos organometálicos *in vivo*.
- Citar ejemplos de la capacidad de un metal de transición dado para funcionar como un portador de electrones en una proteína, un portador de oxígeno en otra, y un catalizador redox en otra más.
- Explicar cómo la posesión de múltiples iones metálicos permite que las metaloenzimas citocromo oxidasa y nitrogenasa catalicen la reducción de oxígeno molecular y nitrógeno, respectivamente.
- Describir dos mecanismos por los cuales los niveles excesivos de metales de transición pueden ser dañinos para los organismos vivos.
- Proporcionar una definición operacional del término “metal pesado” y enumerar tres estrategias para tratar el envenenamiento agudo por metales pesados.
- Describir los procesos mediante los cuales se absorben Fe, Co, Cu y Mo en el tracto gastrointestinal humano.
- Describir el papel metabólico de la sulfito oxidasa y la patología de la deficiencia de sulfito oxidasa.
- Describir la función de los motivos del dedo de zinc y brindar un ejemplo de su papel en el metabolismo de los iones metálicos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El mantenimiento de la salud y la vitalidad humana requieren la ingestión de distintos niveles de numerosos elementos inorgánicos, entre ellos los metales de transición hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), cobalto (Co), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdeno (Mo), vanadio (V) y cromo (Cr). En general, los metales de transición son secuestrados en complejos organometálicos dentro de nuestros cuerpos, permitiendo que sus propiedades sean controladas y dirigidas donde sea necesario, y se minimiza su propensión a estimular la generación de especies de oxígeno reactivas nocivas. Los metales de transición son componentes clave de numerosas enzimas y proteínas de transporte de electrones, así como las proteínas de transporte de oxígeno hemoglobina y hemocianina. Los motivos del dedo de zinc proporcionan los dominios de unión al DNA para muchos factores de transcripción, mientras que los conjuntos de Fe-S se encuentran en muchas de las enzimas que participan en la replicación y reparación del DNA. Las deficiencias nutricionales o genéticamente inducidas por estos metales están asociadas con una variedad de condiciones patológicas que incluyen anemia perniciosa (Fe), enfermedad de Menkes (Cu) y deficiencia de sulfito oxidasa (Mo). Cuando se ingieren en grandes cantidades, la mayoría de los metales pesados, incluyendo varios de los metales de transición esenciales desde el punto de vista nutricional, son muy tóxicos y casi todos son potencialmente cancerígenos.

LOS METALES DE TRANSICIÓN SON ESENCIALES PARA LA SALUD

Los seres humanos requieren cantidades mínimas de varios elementos inorgánicos

Los elementos orgánicos como el oxígeno, el carbono, el hidrógeno, el nitrógeno, el azufre y el fósforo representan normalmente poco más del 97% de la masa del cuerpo humano. El calcio, presente en mayor medida en los huesos, los dientes y el cartílago, contribuye con un ≈2% adicional. El 0.4 a 0.5% restante corresponde a numerosos elementos inorgánicos (**cuadro 10-1**). Muchos de estos son esenciales para la salud, aunque en cantidades mínimas, y por tanto se clasifican comúnmente como **micronutrientes**. Los ejemplos de micronutrientes fisiológicamente esenciales incluyen yodo, el cual se requiere para la síntesis de tri- y tetrayodotironina (véase capítulo 41); selenio, que se requiere para la síntesis del aminoácido selenocisteína (véase capítulo 27), y vitaminas (véase capítulo 44). El presente capítulo se enfocará en los roles fisiológicos de los metales de transición nutritivamente esenciales: hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), cobalto (Co), cobre (Cu), níquel (Ni), molibdeno (Mo), vanadio (V) y cromo (Cr).

Los metales de transición son multivalentes

Una característica común de los metales es su propensión a someterse a la **oxidación**, un proceso en el cual donan uno o más electrones de su envoltura externa o de valencia a una especie receptora electronegativa, por ejemplo, oxígeno molecular. La oxidación de un metal alcalino o alcalinotérreo (**figura 10-1**) da como resultado una especie ionizada única, por ejemplo, Na^+, K^+, Li^+, Mg^{2+} o Ca^{2+}. Por el contrario, la **oxidación de los metales de transición** puede producir **estados de valencia *múltiple*** (**cuadro 10-2**). Esta capacidad permite que los metales de transición experimenten transiciones dinámicas entre los estados de valencia mediante la adición o donación de electrones y, por tanto, que funcionen como portadores de electrones durante las reacciones de oxidación-reducción (redox). Esos metales de transición también pueden actuar como ácidos expandiendo aún más sus funciones biológicas.

Los iones metálicos de transición son potentes ácidos de Lewis

Además de servir como portadores de electrones, las capacidades funcionales de los metales de transición nutricionalmente esenciales se potencian por su capacidad de actuar como ácidos de Lewis. Los ácidos próticos (Bronsted-Lowry) pueden donar un protón (H^+) a un receptor con un par de electrones solitarios, por ejemplo, una amina primaria o una molécula de agua. Los ácidos de Lewis, por el contrario, son ***apróticos***. Al igual que los iones H^+, los ácidos de Lewis poseen orbitales de valencia vacíos capaces de asociarse de forma no covalente o "aceptar" un único par de electrones de una segunda molécula "donante". El hierro ferroso (Fe^{2+}) de la mioglobina y la hemoglobina actúan como bases de Lewis cuando se unen al oxígeno u otros gases diatómicos, como el monóxido de carbono (capítulo 8). Los Zn^{2+} o Mn^{2+} divalentes actúan como ácidos de Lewis durante la catálisis por enzimas hidrolíticas, potenciando en especial la nucleofilia de las moléculas de agua del sitio activo.

TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS

La mayoría de los metales pesados, un término vagamente definido para los elementos metálicos con densidades superiores a 5 g/cm^3 o números atómicos >20, son tóxicos. Algunos ejemplos bien conocidos incluyen arsénico, antimonio, plomo, mercurio y cadmio, cuya toxicidad surge luego de una serie de mecanismos.

Desplazamiento de un catión esencial

La capacidad de un metal pesado para desplazar un metal funcionalmente esencial puede conducir con facilidad a la pérdida o deterioro de la función. Los ejemplos clásicos incluyen el desplazamiento del hierro por **galio** en las enzimas ribonucleótido reduc-

CUADRO 10-1 Cantidades de elementos seleccionados en el cuerpo humano

Elemento	Masa	Esencial	Elemento	Masa	Esencial	Elemento	Masa	Esencial
Oxígeno	43 kg	+	Selenio	15 µg	+	Cadmio	50 µg	–
Carbono	16 kg	+	Hierro	4.2 g	+	Rubidio	680 µg	–
Hidrógeno	7 kg	+	Zinc	2.3 g	+	Estroncio	320 µg	–
Nitrógeno	1.8 kg	+	Cobre	72 µg	+	Titanio	20 µg	–
Fósforo	780 g	+	Níquel	15 µg	+	Plata	2 µg	–
Calcio	1.0 kg	+	Cromo	14 µg	+	Niobio	1.5 µg	–
Azufre	140 g	+	Manganeso	12 µg	+	Zirconio	1 µg	–
Potasio	140 g	+	Molibdeno	5 µg	+	Tungsteno	20 ng	–
Sodio	100 g	+	Cobalto	3 µg	+	Itrio	0.6 µg	–
Cloro	95 g	+	Vanadio	0.1 µg	+	Cerio	40 µg	–
Magnesio	19 g	+	Silicio	1.0 mg	Posiblemente	Bromo	260 µg	–
Yodo	20 µg	+	Flúor*	2.6 g	–	Plomo*	120 µg	–

Los datos para un ser humano de 70 kg (150 lb) provienen de *Emsley, John, The Elements.* 3ª ed. Oxford: Clarendon Press; 1998. La esencialidad del cromo se basa en su función biológica propuesta.

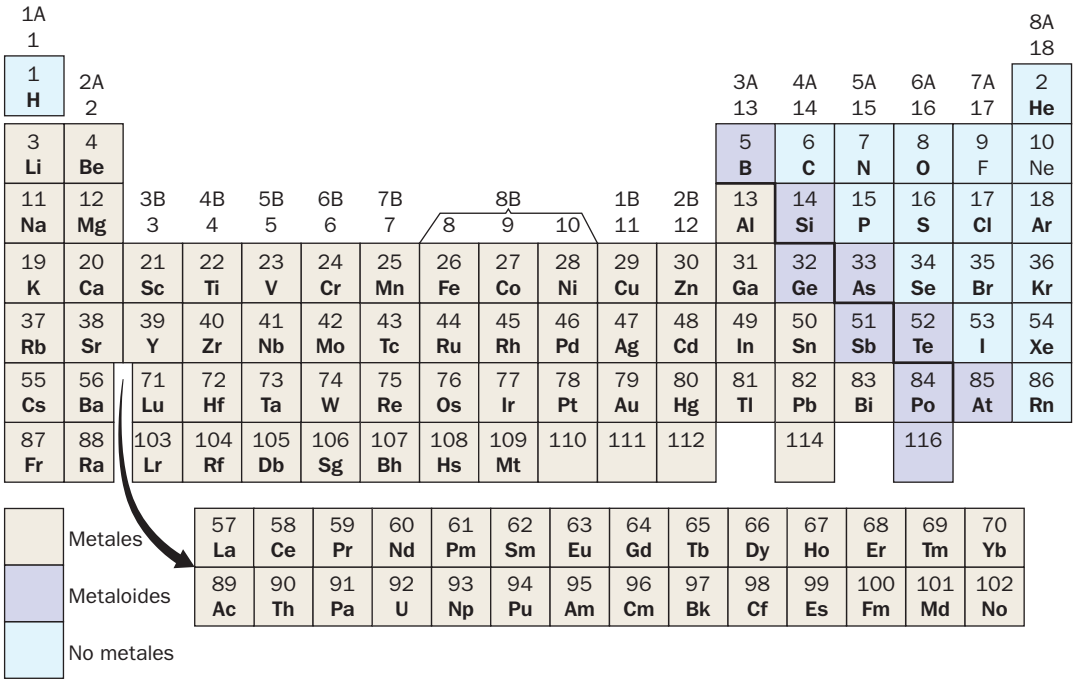


FIGURA 10-1 Tabla periódica de los elementos. Los metales de transición ocupan las columnas 3 a 11, también marcadas como 1B a 8B.

tasa y Fe, Cu superóxido dismutasa. El Ga^{3+}, aunque tiene un tamaño similar y una carga idéntica a Fe^{3+}, carece de la capacidad de multivalencia del hierro. La sustitución de Fe^{3+} por Ga^{3+} vuelve a las enzimas afectadas catalíticamente inertes.

Inactivación enzimática

Los metales pesados forman fácilmente aductos con grupos sulfhidrilos libres. Si está presente en las proteínas, la formación de estos aductos socava la integridad estructural de la proteína, con el deterioro concomitante de la función. Los ejemplos incluyen la inhibición de la δ-aminolevulinato sintasa por Pb (véase capítulo 31) y la inactivación del complejo piruvato deshidrogenasa por arsénico o mercurio. En la piruvato deshidrogenasa, los metales pesados reaccionan con el sulfhidrilo en el grupo prostético esencial, el ácido lipoico (véase capítulo 18), en lugar de hacerlo con una peptidil cisteína. Se muestran los posibles estados de valencia para cada uno de los estados de transición nutricionalmente esenciales. Los estados de valencia bioquímica y fisiológicamente relevantes se destacan en rojo.

CUADRO 10-2 Estados de valencia de metales de transición esenciales

Metal de transición	Valencias potenciales
Cobalto	Co^{-1}, Co^{0}, **Co^{+}, Co^{2+}, Co^{3+}**, Co^{4+}
Cromo	Cr^{-4}, Cr^{-2}, Cr^{-}, Cr^{0}, Cr^{+}, Cr^{2+}, **Cr^{3+}**, Cr^{4+}, Cr^{5+}, Cr^{6+}
Cobre	Cu^{0}, **Cu^{+}, Cu^{2+}**
Hierro	Fe^{0}, Fe^{+}, **Fe^{2+}, Fe^{3+}, Fe^{4+}**, Fe^{5+}, Fe^{6+}
Manganeso	Mn^{3-}, Mn^{2-}, Mn^{-}, Mn^{0}, Mn^{+}, **Mn^{2+}, Mn^{3+}**, Mn^{4+}, Mn^{5+}, Mn^{6+}, Mn^{7+}
Molibdeno	Mo^{4-}, Mo^{2-}, Mo^{-}, Mo^{0}, Mo^{+}, Mo^{2+}, Mo^{3+}, **Mo^{4+}, Mo^{5+}, Mo^{6+}**
Níquel	Ni^{2-}, Ni^{-}, Ni^{0}, Ni^{+}, **Ni^{2+}**, Ni^{4+}
Vanadio	V^{-}, V^{0}, V^{+}, V^{2+}, **V^{3+}, V^{4+}, V^{5+}**
Zinc	Zn^{2-}, Zn^{0}, Zn^{+}, **Zn^{2+}**

Se muestran los posibles estados de valencia para cada uno de los estados de transición nutricionalmente esenciales. Los estados de valencia bioquímica y fisiológicamente relevantes se destacan en rojo.

Formación de especies reactivas de oxígeno

Los metales pesados pueden inducir la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, *reactive oxygen species*), que pueden dañar el DNA, los lípidos de membrana y otras biomoléculas (véase capítulo 58). El daño oxidativo al DNA puede causar mutaciones genéticas que pueden provocar cáncer u otras condiciones fisiopatológicas. La peroxidación mediada por ROS de las moléculas de lípidos (véase figura 21-23) puede conducir a la pérdida de la integridad de la membrana. La disipación resultante de los potenciales de acción y la interrupción de diversos procesos de transporte a través de la membrana pueden ser particularmente perjudiciales para las funciones neurológicas y neuromusculares. También se ha informado que las ratas alimentadas con niveles excesivos de metales pesados son propensas a desarrollar tumores cancerosos.

TOXICIDAD DE LOS METALES DE TRANSICIÓN

Aunque esenciales nutricionalmente, varios metales de transición son, sin embargo, nocivos si hay exceso de estos en el cuerpo (**cuadro 10-3**). Por consiguiente, los organismos superiores ejercen un control estricto sobre la captura y la excreción de iones de metales de transición. Los ejemplos incluyen el sistema de **hepcidina** para la regulación del hierro (véase figura 52-8) para evitar su acumu-

CUADRO 10-3 Toxicidad relativa de los metales

Toxicidad		
No tóxicos	**Baja**	**Media a alta**
Aluminio **Manganeso**	Bario Estaño	Antimonio Niobio
Bismuto **Molibdeno**	Cerio Iterbio	Berilio Paladio
Calcio Potasio	Germanio Itrio	Cadmio Platino
Cesio Rubidio	Oro	**Cromo** Selenio
Hierro Sodio	Rodio	**Cobalto** Torio
Litio Estroncio	Escandio	**Cobre** Titanio
Magnesio	Terbio	Indio Tungsteno
		Plomo Uranio
		Mercurio Vanadio
		Polonio Zirconio
		Níquel **Zinc**

Los metales de transición nutricionalmente esenciales están en letra roja. US Geological Circular 1133 (1995).

lación a niveles perjudiciales. Estos mecanismos se pueden eludir hasta cierto punto cuando los metales de transición ingresan por inhalación o absorción a través de la piel o las membranas mucosas, y pueden verse dañados por la ingestión de niveles suprafisiológicos masivos. Los síntomas típicos de envenenamiento agudo por metales debido a metales pesados o a metales de transición incluyen dolor abdominal, vómitos, calambres musculares, confusión y entumecimiento. Los tratamientos incluyen la administración de agentes quelantes de metales, diuréticos o, si se compromete la función renal, la hemodiálisis.

LOS ORGANISMOS VIVOS AGRUPAN METALES DE TRANSICIÓN DENTRO DE COMPLEJOS ORGANOMETÁLICOS

La complejación mejora la solubilidad y controla la reactividad de iones metálicos

Los niveles de metales de transición libres en el cuerpo son, en circunstancias normales, extremadamente bajos. La gran mayoría se encuentra asociada de modo directo con proteínas a través de los átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre que se encuentran en las cadenas laterales de aminoácidos como aspartato, glutamato, histidina o cisteína (**figura 10-2**); o con otros restos orgánicos como porfirina (véase figura 6-1), corrina (véase figura 44-10) o pterinas (**figura 10-3**). El secuestro de metales de transición en complejos organometálicos confiere múltiples ventajas que incluyen la protección contra la oxidación, la supresión de la producción de ROS, la mejora de la solubilidad, el control de la reactividad y la unión de unidades multimetales (**figura 10-4**).

Importancia de la capacidad multivalente

La función fisiológica de los cofactores y grupos prostéticos que contienen metales de transición depende de la conservación de un estado de oxidación apropiado de iones multivalentes. Por ejemplo, el anillo de porfirina y los residuos de histidilo proximal y distal de la cadena de polipéptido de globina que complejizan los átomos de Fe^{2+} en la hemoglobina los protege de la oxidación a metahemoglobina que contiene Fe^{3+}, la cual es incapaz de unirse y transportar oxígeno (véase capítulo 6). Los iones de metales de transición libres son vulnerables a la oxidación por O_2 y agentes dentro de la célula. Los iones de metales de transición libres no sólo son vulnerables a la oxidación no específica, sino que su interacción con agentes oxidantes como O_2, NO y H_2O_2 da como resultado generalmente la generación de ROS aún más reactivas (véase figura 58-2). La incorporación en complejos organometálicos protege tanto el estado de oxidación funcionalmente relevante del metal de transición como el potencial para generar ROS perjudiciales.

Los ligandos adyacentes pueden modificar el potencial redox

En los complejos organometálicos, la posición y la identidad de los ligandos circundantes pueden modificar o ajustar el potencial redox y la potencia ácida de Lewis de los iones de metales de transición, optimizándolos para tareas específicas **(cuadro 10-4**). Por

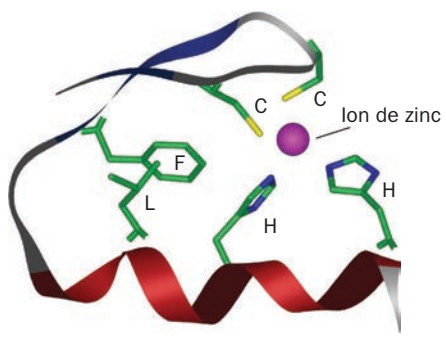


FIGURA 10-2 Diagrama tipo lazo de un consenso de dominio de dedo de zinc C_2H_2. Se muestran los grupos unidos de Zn^{2+} (púrpura) y R de los residuos conservados de fenilalanila (F), leucilo (L) cisteinilo (C) e histidinilo (H) con sus átomos de carbono en verde. La parte posterior del polipéptido se muestra como una cinta, con partes alfahelicoidales resaltadas en rojo. Los átomos de azufre y nitrógeno de los grupos R de los restos cisteinilo e histidilo se muestran en amarillo y azul, respectivamente.

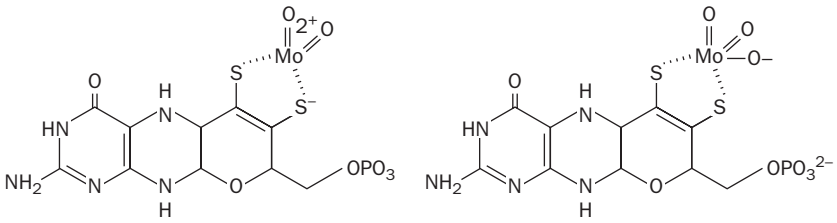


FIGURA 10-3 Molibdopterina. Se muestran las formas oxidada (**izquierda**) y reducida (**derecha**) de la molibdopterina.

ejemplo, tanto el citocromo c como la mioglobina son proteínas monoméricas pequeñas, de 12 a 17 kDa, que contienen un solo hierro hem. Mientras que el hierro en la mioglobina se optimiza por su entorno, tanto para unir el oxígeno como para mantener un estado de valencia de Fe^{2+} constante, el átomo de hierro en el citocromo c se optimiza para pasar de los estados de valencia +2 a +3 para que la proteína pueda transportar electrones entre los complejos III y IV de la cadena de transporte de electrones. Las superóxido dismutasas (SOD, *superoxide dismutases*) ilustran cómo la complejización puede adaptar diferentes metales de transición como catalizadores para una reacción química común, la desproporción de H_2O_2 en H_2O y O_2. Cada una de las cuatro SOD distintas y no homólogas contienen diferentes metales de transición cuyos símbolos atómicos se utilizan para designar a cada familia: Fe-SOD, Mn-SOD, Ni-SOD y Cu, Zn-SOD.

La complejación puede organizar múltiples iones metálicos en una sola unidad funcional

La formación de complejos organometálicos también permite que múltiples iones metálicos se ensamblen en una sola unidad funcional con capacidades que se encuentran más allá de las que se pueden obtener con un solo ion de metal de transición. En la enzima de las plantas, ureasa, la cual cataliza la hidrólisis de urea en las plantas, la presencia de dos átomos de Ni dentro del sitio activo

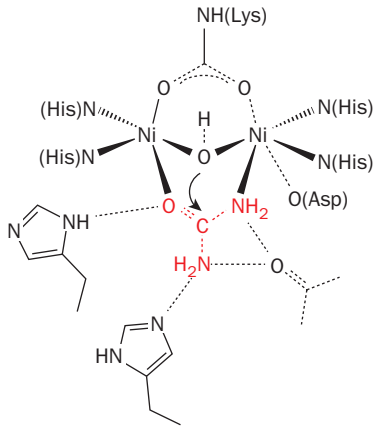


FIGURA 10-4 La hidrólisis de urea requiere de la influencia conjunta de dos átomos de Ni en el sitio activo. La figura representa la formación del intermediario de estado de transición para la hidrólisis del primer enlace C-N en la urea (rojo) por la enzima ureasa. Observe cómo los átomos de Ni quelan una molécula de agua para formar un hidróxido nucleofílico y debilitan el enlace C-N a través de interacciones de ácido de Lewis con pares de electrones solitarios en el O y uno de los átomos de N de la urea.

permite que la enzima polarice simultáneamente electrones en el enlace C-N dirigido a la hidrólisis y active la molécula de agua atacante (figura 10-4). La presencia de dos átomos de Fe y dos de Cu en la citocromo oxidasa permite que el complejo IV de la cadena de transporte de electrones acumule los cuatro electrones necesarios para llevar a cabo la reducción de oxígeno en agua. De manera similar, la enzima bacteriana nitrogenasa emplea un grupo protésico 8Fe-7S llamado grupo P y un cofactor Fe, Mo único para llevar a cabo la reducción de ocho electrones de nitrógeno atmosférico a amoniaco.

ROLES FISIOLÓGICOS DE LOS METALES DE TRANSICIÓN ESENCIALES

Hierro

El hierro es uno de los metales de transición fisiológicamente más versátiles desde el punto de vista funcional. Tanto en la hemoglobina como en la mioglobina, el hierro Fe^{2+} unido al hem se utiliza para unir un gas diatómico, O_2, para el transporte y el almacenamiento, respectivamente (véase capítulo 6). De manera similar, en invertebrados marinos, el hierro presente en el **centro dihierro** de la hemeritrina (**figura 10-5**) puede unirse y transportar oxígeno. Por el contrario, los átomos de hierro contenidos en los grupos hem de los citocromos tipo b y c y los conjuntos Fe-S (véase figura 13-4) y los centros de hierro Rieske (**figura 10-6**) de otros componentes de la cadena transportadora de electrones transportan electrones transitando entre su estado ferroso (+2) y férrico (+3).

Funciones del hierro en reacciones redox

Los átomos de hierro de las metaloproteínas participan en la catálisis de reacciones de oxidación-reducción o redox. La proteína portadora de estearoil-acilo Δ^9-desaturasa y la ribonucleótido reductasa de tipo 1 emplean centros dihierros similares a la hemeritrina para catalizar la reducción de dobles enlaces carbono-carbono y un alcohol, respectivamente, a grupos metileno. La metano monooxigenasa utiliza un centro de dihierro similar para la oxidación de metano a metanol. Los miembros de la familia del citocromo P450 generan $Fe = O^{3+}$. Éste es un poderoso oxidante que participa en la reducción y neutralización de una amplia gama de xenobióticos a través de la reducción de dos electrones de O_2, un proceso complejo durante el cual el hierro hemo oscila entre +2, +3, +4 y +5 estados de oxidación.

Participación del hierro en reacciones no redox

Las fosfatasas ácidas púrpuras, las enzimas bimetálicas que contienen un átomo de hierro combinado con un segundo metal, como Zn, Mn, Mg o un segundo Fe, catalizan la hidrólisis de los fosfomo-

CUADRO 10-4 Algunas metaloproteínas biológicamente importantes

Proteína	Función o reacción catalizada	Metal(es)
Aconitasa	Isomerización	Centro Fe-S
Alcohol deshidrogenasa	Oxidación	Zn
Fosfatasa alcalina	Hidrólisis	Zn
Arginasa	Hidrólisis	Mn
Aromatasa	Hidroxilación	Fe hemo
Azurin (bacteria)	Transporte e^-	Cu
Anhidrasa carbónica	Hidratación	Zn
Carboxipeptidasa A	Hidrólisis	Zn
Citocromo c	Transporte e^-	Fe hemo
Citocromo oxidasa	Reducción de O_2 a H_2O	Fe hemo
Citocromo P450	Oxidación e hidroxilación	Fe hemo (2) y Cu (2)
Dopamina betahidroxilasa	Hidroxilación	Cu
Ferredoxina	Transporte e^-	Centro Fe-S
Galactosil transferasa	Síntesis de glucoproteína	Mn
Hemoglobina	Transporte de O_2	Fe hemo (4)
Isocitrato deshidrogenasa	Oxidación	Mn
Betalactamasa II (bacteria)	Hidrólisis	Zn
Lisil oxidasa	Oxidación	Cu
Metaloproteasa de matriz	Hidrólisis	Zn
Mioglobina	Almacenamiento de O_2	Fe hemo
Óxido nítrico sintasa	Reducción	Fe hemo
Nitrogenasa (bacteria)	Reducción	Fe, cofactor de Mo, conjunto-P (Fe), centro Fe-S
Fosfolipasa C	Hidrólisis	Zn
Ribonucleótido reductasa	Reducción	Fe (2)
Sulfito oxidasa	Oxidación	Molibdopterina y centro Fe-S
Superóxido dismutasa (citoplásmica)	Desproporción	Cu, Zn
Ureasa (planta)	Hidrólisis	Ni
Xantina oxidasa	Oxidación	Molibdopterina y centro Fe-S

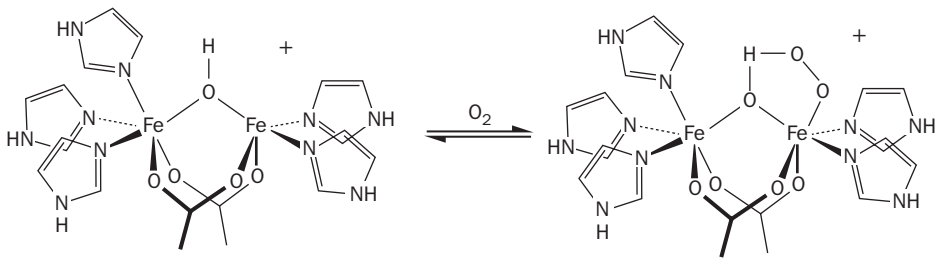


FIGURA 10-5 Centro dihierro de las formas de desoxi (izquierda) y oxi (derecha) de hemetrina. Se muestran las cadenas laterales de los residuos de histidina, glutamato y aspartato responsables de unir los iones metálicos al polipéptido.

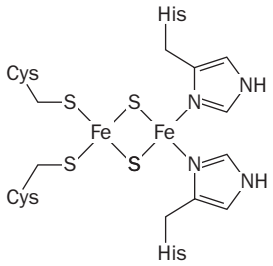


FIGURA 10-6 Estructura del centro hierro-azufre de Rieske. Los centros hierro-azufre de Rieske son un tipo de complejo 2Fe-2S en el cual los residuos de histidina reemplazan a dos de los residuos de cisteína que normalmente unen al grupo prostético con la cadena de polipéptidos

no-ésteres. La mieloperoxidasa emplea hierro hem para catalizar la condensación de H_2O_2 con iones Cl^- para generar ácido hipocloroso, HOCl, un potente bactericida utilizado por los macrófagos para matar los microorganismos atrapados. Recientemente se ha demostrado que muchas enzimas implicadas en la replicación y reparación del DNA, incluyendo DNA helicasa, DNA primasa, varias DNA polimerasas, algunas glucosilasas y endonucleasas, y varios factores de transcripción contienen conjuntos Fe-S. Si bien su eliminación da como resultado generalmente una pérdida de la función proteica, el o los rol(es) desempeñado(s) por estos centros Fe-S permanecen crípticos. Sin embargo, dado que la mayoría se encuentra en la unión al DNA, en lugar de los dominios catalíticos de estas proteínas, se ha manifestado que estos centros Fe-S pueden funcionar como detectores electroquímicos para la identificación del DNA dañado. Otros especulan que estos grupos actúan como moduladores redox-sensibles de actividad catalítica o unión al DNA, o simplemente como estabilizadores de la estructura tridimensional de estas proteínas.

Manganeso

El cuerpo humano tiene un grupo de enzimas que contienen Mn, la mayoría de las cuales se encuentran dentro de las mitocondrias. Éstas incluyen la isocitrato deshidrogenasa del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA, *tricarboxylic acid*), dos actores clave en el metabolismo del nitrógeno: glutamato sintetasa y arginasa, y las enzimas gluconeogénicas piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa, isopropil malato sintasa y la isozima mitocondrial de la superóxido dismutasa. En la mayoría de estas enzimas, el Mn está presente en estado de oxidación +2 y se supone que actúa como un ácido de Lewis. Por el contrario, algunos organismos bacterianos emplean Mn en varias enzimas responsables de catalizar reacciones redox, donde este transita entre los estados de oxidación +2 y +3 en, por ejemplo, Mn-superóxido dismutasa (Mn-SOD), Mn-ribonucleótido reductasa y Mn-catalasa.

Zinc

A diferencia de los iones divalentes (+2) de otros metales de transición de la primera fila (figura 10-1), la capa de valencia de Zn^{2+} posee un conjunto completo de electrones. Como consecuencia, los iones Zn^{2+} no adoptan estados de oxidación alternativos en condiciones fisiológicas, lo que los hace inadecuados para participar en procesos de transporte de electrones o como catalizadores de reacciones redox. Por otro lado, los iones Zn^{2+} redox inertes también presentan un riesgo mínimo de generar especies dañinas de ROS. Su estado único entre los metales de transición fisiológicamente esenciales hace que Zn^{2+} sea un candidato ideal como ligando para estabilizar la conformación proteica.

Se ha estimado que el cuerpo humano posee 3 000 metaloproteínas que contienen zinc. La gran mayoría de éstas son factores de transcripción y otras proteínas de unión a DNA y RNA que poseen de una a treinta copias de un dominio de unión a polinucleótido que contiene Zn^{2+} conocido como dedo de zinc. Los dedos de zinc consisten en un ciclo polipeptídico cuya conformación se estabiliza mediante las interacciones entre Zn^{2+} y pares de electrones donados por los átomos de azufre y nitrógeno contenidos en dos residuos conservados de cisteína y de histidina (véase figura 38-16). Los dedos de zinc unen polinucleótidos con un alto grado de especificidad del sitio asignado, al menos en parte, por variaciones en la secuencia de aminoácidos que constituyen el resto del ciclo. Los científicos están trabajando para explotar esta combinación de tamaño pequeño y especificidad de unión para construir nucleasas específicas de secuencia para su uso en la ingeniería genética y, eventualmente, en la terapia génica.

El Zn^{2+} es también un componente esencial de varias metaloenzimas, incluidas la carboxipeptidasa A, la anhidrasa carbónica II, la adenosina desaminasa, la fosfatasa alcalina, la fosfolipasa C, la leucina aminopeptidasa, la forma citosólica de la superóxido dismutasa y la alcohol deshidrogenasa. El Zn^{2+} es también un compuesto de las betalactamasas tipo II utilizadas por las bacterias para neutralizar la penicilina y otros antibióticos lactámicos. Estas metaloenzimas explotan las propiedades de ácido de Lewis del Zn^{2+} para estabilizar el desarrollo de intermediarios con carga negativa, polarizar la distribución de electrones en grupos carbonilos y potenciar la nucleofilia del agua (**figura 10-7**).

Cobalto

La función bioquímica predominante y única conocida, hasta ahora, del cobalto en la dieta es como el componente central de la 5'-desoxiadenosilcobalamina, también conocida como vitamina B_{12} (véase figura 44-10). El Co^{3+} en este cofactor reside en el centro de un anillo de tetrapirrol corrina en donde actúa como una base de Lewis que se une a grupos de un carbono, metilo o metileno y facilita la transferencia de estos. En humanos, esto incluye la transferencia catalizada por enzimas de un grupo (CH_3 de tetrahidrofolato a homocisteína), el paso final en la síntesis del aminoácido metionina (véase figura 44-13), y la reordenación de metilmalonil-CoA para formar succinil-CoA durante el catabolismo del propionato generado a partir del metabolismo de la isoleucina y los lípidos que contienen números impares de aminoácidos (véase figura 19-2). Durante la última reacción, el Co^{3+} se reduce transitoriamente al estado de oxidación 2+ al extraer un electrón para generar un radical metileno reactivo, R-CH_2. Se puede encontrar más información sobre el Co y la vitamina B_{12} en el capítulo 44.

Cobre

El cobre es un componente funcionalmente esencial de aproximadamente 30 metaloenzimas diferentes en humanos, incluida la citocromo oxidasa, la dopamina betahidroxilasa, la tirosinasa, la forma citosólica de la superóxido dismutasa (Cu, Zn-SOD) y la lisil oxidasa. La dopamina betahidroxilasa y la tirosinasa son catecolaminas oxidasas, enzimas que oxidan la ortoposición en los anillos de fenol de la L-dopamina (véase figura 41-10) y la tirosina, respec-

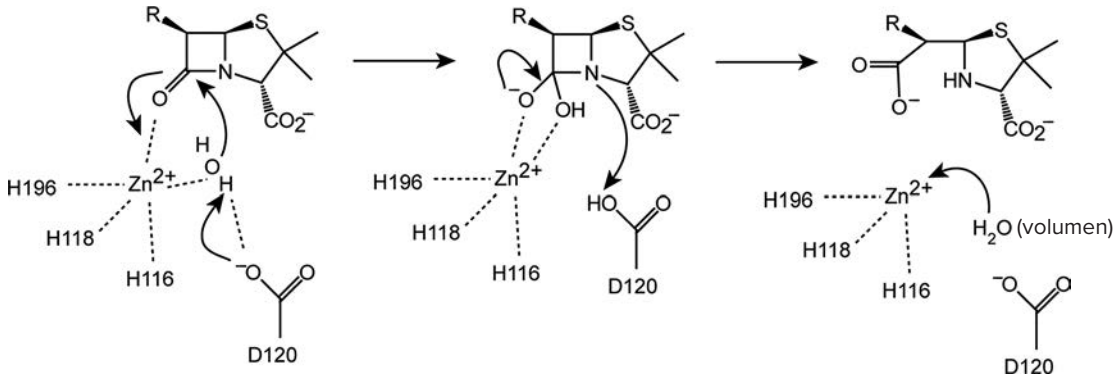


FIGURA 10-7 **Función del Zn^{2+} en los mecanismos catalíticos de betalactamasa II.** El Zn^{2+} se une a la enzima a través de los átomos de nitrógeno presentes en las cadenas laterales de múltiples residuos de histidina (H). **Izquierda:** el Zn^{2+} activa una molécula de agua, de la cual uno de sus protones se acomoda por el ácido aspártico (D) residuo 120, que (**centro**) ejecuta un ataque nucleofílico sobre el carbonilo C del anillo de lactama del antibiótico. **Derecha:** el D120 dona el protón unido al nitrógeno de la lactama, lo que facilita la división del enlace C-N en el intermediario tetraédrico.

tivamente. La primera es el paso final en el camino por el cual la adrenalina se sintetiza en la glándula suprarrenal, mientras que la última es el primer paso limitante de la velocidad en la síntesis de la melanina. Tanto la dopamina betahidroxilasa como la tirosinasa son miembros de la familia de proteínas de cobre de tipo 3, que comparten un centro de **dicobre** común. Como se muestra en la **figura 10-8**, los átomos de cobre en las catecolaminas oxidasas quelan una molécula de oxígeno molecular, activándolo para atacar

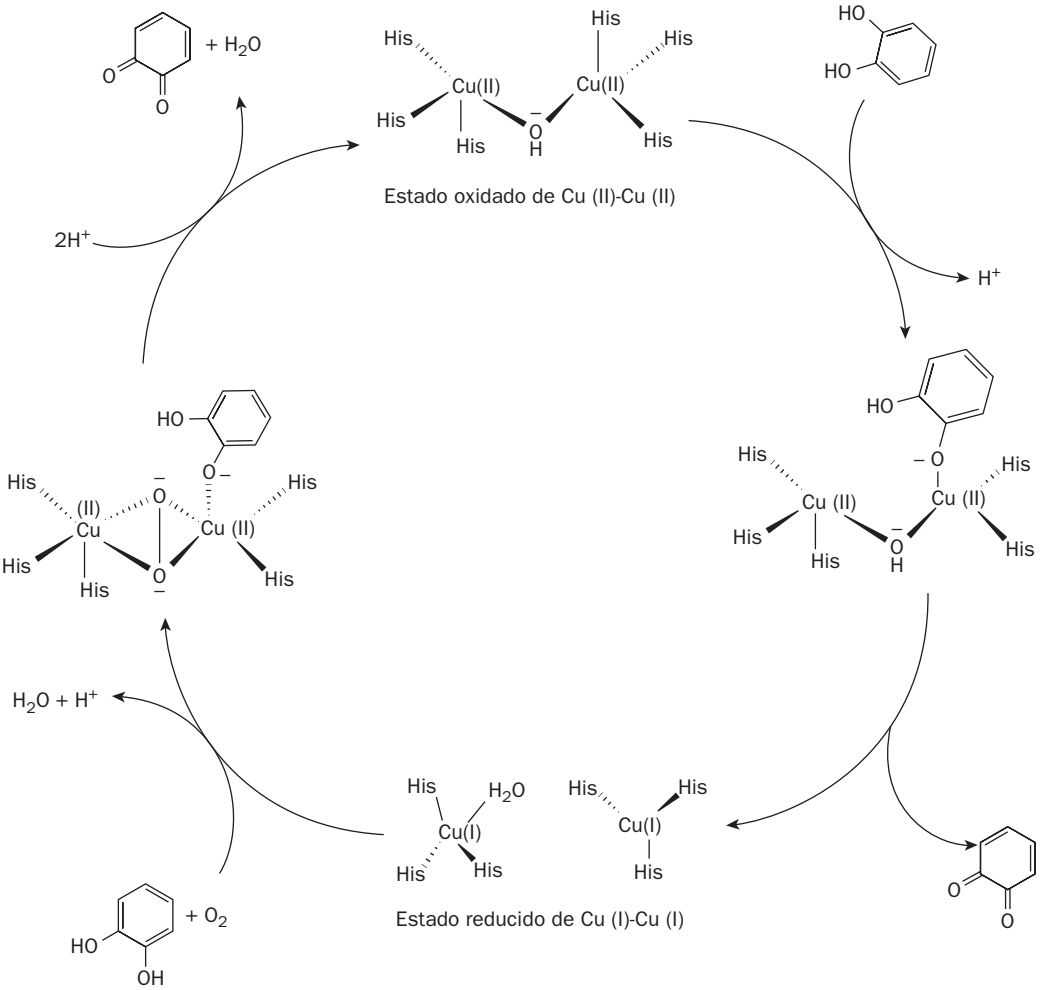


FIGURA 10-8 **Mecanismo de reacción de las catecolaminas oxidasas.**

un anillo de fenol. Durante este proceso, los átomos de cobre transitan entre los estados de oxidación +2 y +1. Otra proteína de cobre de tipo 3 es la hemocianina. A diferencia de las catecolaminas oxidasas, el centro dicobre de hemocianina sirve para transportar oxígeno en animales invertebrados como los moluscos que carecen de hemoglobina.

En el Cu, Zn-SOD, el átomo de Cu^{2+} en el centro bimetálico extrae un electrón del superóxido, O_2^-, una especie extremadamente reactiva de oxígeno muy citotóxica, formando O_2 y Cu^{1+}. El átomo de Cu en la enzima se restablece a su estado de valencia original +2 donando un electrón a una segunda molécula de superóxido, generando H_2O_2. Mientras que el peróxido de hidrógeno también es un ROS, es considerablemente menos reactivo que O_2^-, un anión radical. Además, puede convertirse posteriormente en agua y O_2 mediante la acción de una segunda enzima desintoxicante, la catalasa (véase capítulo 12).

La lisil oxidasa emplea un solo átomo de Cu^2 para convertir los grupos épsilon amino, en cadenas laterales de lisina en colágeno o elastina, en aldehídos usando oxígeno molecular. Los grupos aldehído en la cadena lateral del aminoácido resultante, alisina (ácido 2-amino-6-oxo-hexanoico), reaccionan luego químicamente con las cadenas laterales de otros residuos de alisina o lisina en polipéptidos adyacentes para generar los enlaces químicos cruzados esenciales para la resistencia excepcional a la tracción del colágeno maduro y las fibras de elastina. Otra característica esencial de la enzima es la presencia de un aminoácido modificado, 2, 4,5-trihidroxifenilalanina quinona, en el sitio activo. Esta modificación se genera por la oxidación autocatalítica de la cadena lateral del residuo de tirosina conservado por la propia lisil oxidasa.

Níquel

Varias enzimas que contienen níquel están presentes en organismos bacterianos, donde catalizan reacciones redox, por ejemplo, Ni, Fe hidrogenasa y metil-coenzima M reductasa, reacciones de transferasas, por ejemplo, acetil-CoA sintasa, y reacciones de desproporción, por ejemplo, superóxido dismutasa. El Ni es un componente clave de la ureasa, una enzima que se encuentra en bacterias, hongos y plantas (figura 10-4). Sin embargo, la base molecular del requerimiento dietético para el níquel en humanos y otros mamíferos aún no se ha descubierto.

Molibdeno

Roles catalíticos de la molibdopterina

El molibdeno es un componente clave del cofactor molibdopterina filogenéticamente universal (figura 10-3). En animales, la molibdopterina sirve como un grupo protésico catalíticamente esencial para muchas enzimas, incluyendo la xantina oxidasa, la aldehído oxidasa y la sulfito oxidasa. La xantina oxidasa, que también contiene flavina, cataliza los dos últimos pasos oxidativos en la vía por la que se sintetiza el ácido úrico a partir de los nucleótidos purínicos: la oxidación de la hipoxantina a la xantina y la oxidación de la xantina en ácido úrico (véase capítulo 33). La catálisis de este proceso en dos etapas se ve facilitada por la capacidad del átomo de Mo unido para transitar entre los estados de valencia +4, +5 y +6. Además de la molibdopterina y la flavina, la aldehído oxidasa también contiene un conjunto Fe-S. Su complejo conjunto de grupos prostéticos permite a la enzima oxidar una amplia gama de sustratos, incluidos muchos compuestos orgánicos heterocíclicos. Por tanto, se ha dado a entender que la maldehído oxidasa participa, como el sistema del citocromo P450, en la desintoxicación de los xenobióticos (véase capítulo 47).

Metaloenzimas de hierro y molibdeno

La metaloenzima sulfito oxidasa que contiene Fe y Mo se encuentra en las mitocondrias, donde cataliza la oxidación del sulfito (SO_3^{2-}) generado por el catabolismo de las biomoléculas que contienen azufre a sulfato, SO_4^{2-}. En cuanto a la xantina oxidasa, la capacidad del ion de molibdeno para la transición entre los estados de oxidación +6, +5 y +4 es fundamental para proporcionar una ruta catalítica mediante la cual los dos electrones eliminados de la molécula de sulfito puedan transferirse secuencialmente a dos moléculas del citocromo c, cada una de las cuales puede transportar sólo un electrón (**figura 10-9**). Las mutaciones en cualquiera de los tres genes, *MOCS1*, *MOCS2* o *GPNH*, cuyos productos proteínicos catalizan pasos clave en la síntesis de molibdopterina pueden conducir a la **deficiencia de sulfito oxidasa**. Las personas que padecen este error congénito del metabolismo de herencia autosómica, son incapaces de descomponer el azufre contenido en los aminoácidos cisteína y metionina. La acumulación resultante de estos aminoácidos y sus derivados en sangre y tejidos neonatales produce graves deformidades físicas y daños cerebrales que provocan convulsiones intratables, retraso mental grave y, en la mayoría de los casos, la muerte durante la primera infancia.

Vanadio

Aunque nutricionalmente esencial, la función del vanadio en los organismos vivos sigue siendo enigmática. Hasta la fecha no se ha identificado ningún cofactor que contenga vanadio. El vanadio se encuentra en todo el cuerpo tanto en sus estados de oxidación +4, por ejemplo, HVO_4^{2-}, $H_2VO_4^-$, etc., como en +5, por ejemplo, VO^{2+}, HVO^{3+}, etc. Se sabe que varias proteínas plasmáticas se unen a los óxidos de vanadio, incluyendo la albúmina, la inmunoglobulina G y la transferrina. Aunque se sabe que el vanadato, un análogo de fosfato, inhibe la proteína tirosina fosfatasa y la fosfatasa alcalina *in vitro*, no está claro si estas interacciones tienen alguna importancia fisiológica.

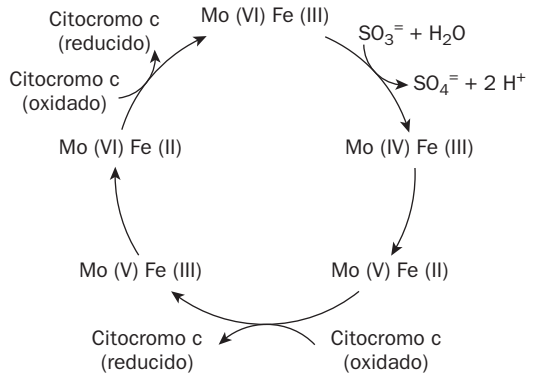


FIGURA 10-9 **Mecanismo de reacción de la sulfito oxidasa que muestra los estados de oxidación de los átomos de hierro y molibdeno unidos a la enzima.**

Cromo

El papel del Cr en humanos sigue siendo desconocido. En la década de 1950 se aisló un "factor de tolerancia a la glucosa" que contenía Cr^{3+} a partir de la levadura de cerveza, cuyos efectos de laboratorio implicaron a este metal de transición como un cofactor en la regulación del metabolismo de la glucosa. Sin embargo, después de varias décadas de investigación no se ha logrado descubrir una biomolécula que contenga Cr ni una enfermedad genética relacionada con Cr en animales. No obstante, muchas personas siguen ingiriendo suplementos dietéticos que contienen Cr, como Cr^{3+} picolinato, por sus supuestas propiedades que facilitan la pérdida de peso.

ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE METALES DE TRANSICIÓN

Los metales de transición son absorbidos por mecanismos diversos

En general, la absorción intestinal de la mayoría de los metales de transición es relativamente ineficiente. Sólo una pequeña porción de los metales de transición ingeridos cada día se absorbe en nuestros cuerpos. Además, algunos metales de transición, como el Ni, pueden absorberse fácilmente a través de los pulmones cuando están presentes en el aire contaminado o como componente del humo del cigarrillo. La "ineficiencia" percibida de la absorción intestinal puede reflejar la combinación de los modestos requisitos del cuerpo humano para estos elementos y la necesidad de amortiguar la acumulación de cantidades excesivas de estos metales pesados potencialmente tóxicos. Si bien comprendemos las vías por las cuales algunos metales de transición, como Fe (véase capítulo 52), se absorben con gran minuciosidad, en otros casos se ha descubierto poca evidencia sólida.

El Fe^{2+} se absorbe directamente a través de una proteína transmembrana, la proteína de transporte de iones metálicos divalentes (DMT-1), en el duodeno proximal. También se presupone que DMT-1 constituye el vehículo principal para la absorción de Mn^{2+}, Ni^{2+} y, en menor medida, Cu^{2+}. Como la mayor parte del hierro en el estómago se encuentra en estado férrico, Fe^{3+}, se debe reducir al estado ferroso, Fe^{2+}, para poder ser absorbido. Esta reacción está catalizada por una reductasa férrica presente también en la superficie celular, el **citocromo b duodenal (Dcytb**, *duodenal cytochrome b***)**. El Dcytb es responsable también de reducir Cu^{2+} a Cu^{1+} antes del transporte por la proteína de transporte de Cu de alta afinidad Ctr1. El molibdeno y el vanadio se absorben en el intestino como los oxaniones vanadato, HVO_4^{2-} y molibdato, $HMoO_4^{2-}$, por el mismo transportador de anión no específico responsable de la absorción de sus análogos estructurales fosfato, HPO_4^{2-} y sulfato, SO_4^{2-}. De manera similar, los niveles excesivos de Zn pueden desencadenar una anemia potencialmente letal al inhibir la absorción de un segundo metal de transición esencial de nutrientes, el Cu.

El cobalto se absorbe como el complejo organometálico cobalamina, es decir, vitamina B_{12}, a través de una vía específica que implica dos proteínas secretadas de unión a la cobalamina, haptocorrina y factor intrínseco, y un receptor de la superficie celular, cubilina. En el estómago, la cobalamina liberada de los alimentos ingeridos se une a la haptocorrina, que protege la coenzima del pH extremo de sus alrededores. A medida que el complejo de cobalamina-haptocorrina se desplaza hacia el duodeno, el pH aumenta e induce la disociación del complejo. La cobalamina liberada se une a un homólogo de haptocorrina conocido como factor intrínseco. El complejo de factor intrínseco de la cobalamina resultante es reconocido y asimilado por los receptores de cubilina presentes en la superficie de las células epiteliales intestinales.

RESUMEN

- El mantenimiento de la salud y la vitalidad humana requieren la absorción dietética de pequeñas cantidades de varios elementos inorgánicos, incluyendo diversos metales de transición.
- Muchos metales pesados, incluyendo los niveles excesivos de algunos de los metales de transición nutricionalmente esenciales, son tóxicos y potencialmente cancerígenos.
- La mayoría de los metales pesados, incluyendo los metales de transición esenciales, pueden generar especies reactivas de oxígeno en presencia de agua y oxígeno.
- La intoxicación aguda por metales pesados se trata mediante la ingestión de agentes quelantes, la administración de diuréticos junto con la ingestión de agua o la hemodiálisis.
- La capacidad de los metales de transición para servir como portadores de electrones y gases diatómicos, así como para facilitar la catálisis de una amplia gama de reacciones enzimáticas, se deriva de dos factores: su capacidad de transición entre estados de valencia múltiple y sus propiedades de ácido de Lewis.
- En el cuerpo, los iones de metales de transición pocas veces se encuentran en forma libre. En la mayoría de los casos, existen en complejos organometálicos unidos a proteínas, ya sea directamente por cadenas laterales de aminoácidos o como parte de grupos protésicos organometálicos como hem, los conjuntos de Fe-S o molibdopterina.
- La incorporación en complejos organometálicos sirve como medio para optimizar las propiedades de los metales de transición asociados, evita la generación colateral de especies de oxígeno reactivas y une múltiples metales de transición en una sola unidad funcional.
- En la cadena de transporte de electrones, muchos eventos clave de transferencia de electrones dependen de la capacidad de los átomos de Fe presentes en los hem, los conjuntos de Fe-S y los centros de hierro Rieske para la transición entre sus estados de oxidación +2 y +3.
- La presencia de dos átomos de Fe y dos de Cu permite que la citocromo oxidasa acumule los cuatro electrones necesarios para reducir el oxígeno molecular en agua en el último paso de la cadena de transporte de electrones.
- El Fe se emplea comúnmente como un grupo prostético en muchas de las metaloenzimas que catalizan reacciones de oxidación-reducción.
- La mayoría de las casi 3 000 metaloproteínas de zinc predichas codificadas por el genoma humano contienen un motivo de unión a polinucleótido conservado, el dedo de zinc.
- Los conjuntos Fe-S están presentes en muchas de las proteínas implicadas en la replicación y reparación del DNA. Se ha postulado que estos grupos protésicos sirven como sensores electroquímicos para el daño del DNA.
- La capacidad de ácido de Lewis de Zn^{2+} se utiliza comúnmente para aumentar la nucleofilia del agua mediante enzimas que catalizan reacciones hidrolíticas.
- Los átomos de Mo en la xantina oxidasa y la sulfito oxidasa transitan entre tres estados de valencia diferentes durante la catálisis.

- La acumulación de los aminoácidos que contienen S, metionina y cisteína, en personas que padecen una deficiencia en la Fe, Mo metaloenzima sulfito oxidasa causa graves defectos en el desarrollo, incluso la muerte durante la infancia.
- En humanos, la única función conocida del Co es la de un componente de 5'-desoxiadenosilcobalamina, vitamina B_{12}, un cofactor involucrado en la transferencia de grupos de un carbono. El Co se absorbe en el cuerpo como su complejo de vitamina B_{12}.

REFERENCIAS

Ba LA, Doering M, Burkholz T, Jacob C. Metal trafficking: from maintaining the metal homeostasis to future drug design. *Metallomics* 2009;1:292.

Fuss JO, Tsai CL, Ishida JP, Tainer JA. Emerging critical roles of Fe-S clusters in DNA replication and repair. *Biochim Biophys Acta* 2015;1853:1253.

Liu J, Chakraborty S, Hosseinzadeh P, *et al*. Metalloproteins containing cytochrome, iron-sulfur, or copper redox centers. *Chem Revf* 2014;114:4366.

Lyons TJ, Elde DJ. Transport and storage of metal ions in biology. In *Biological Inorganic Chemistry*. Bertini I, Gray HB, Stiefel EI, Valentine JS (eds.). University Science Books; 2007. p. 57-77.

Maret M. Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv Nutr* 2013;4:82.

Maret M, Wedd A (eds.). *Binding, Transport and Storage of Metal Ions in Biological Cells*. Royal Society of Chemistry; 2014 (Entire volume).

Zhang C. Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. *Protein Cell* 2014;5:750.

Preguntas del examen

Sección II. Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y función de los metales de transición

1. La respiración superficial rápida puede conducir a la hiperventilación, una condición en la que el dióxido de carbono se exhala de los pulmones más rápidamente de lo que lo producen los tejidos. Explique cómo la hiperventilación puede conducir a un aumento en el pH de la sangre.
2. Un ingeniero de proteínas desea alterar el sitio activo de la quimotripsina para que escinda enlaces peptídicos al lado C terminal de los residuos de aspartilo y glutamilo. El ingeniero de proteínas tendrá más probabilidades de tener éxito si reemplaza el aminoácido hidrofóbico en el fondo de la bolsa del sitio activo con:
   A. Fenilalanina
   B. Treonina
   C. Glutamina
   D. Lisina
   E. Prolina
3. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Muchas proteínas mitocondriales se modifican covalentemente por la acetilación de los grupos épsilon amino de residuos de lisina.
   B. La acetilación de proteínas es un ejemplo de una modificación covalente que puede "revertirse" en condiciones fisiológicas.
   C. El aumento de los niveles de acetil-CoA tiende a favorecer la acetilación de las proteínas.
   D. La acetilación aumenta el volumen estérico de las cadenas laterales de aminoácidos que están sujetas a esta modificación.
   E. La cadena lateral de un residuo de lisilo acetilado es una base más fuerte que la de un residuo de lisilo no modificado.
4. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. La catálisis ácido-base es una característica destacada del mecanismo catalítico de la proteasa del HIV.
   B. El modelo de bloqueo y llave de Fischer explica el papel de la estabilización del estado de transición en la catálisis enzimática.
   C. La hidrólisis de enlaces peptídicos por serina proteasas implica la formación transitoria de una enzima modificada.
   D. Muchas enzimas emplean iones metálicos como grupos prostéticos o cofactores.
   E. En general, las enzimas se unen a análogos de estado de transición más estrechamente que los análogos de sustrato.
5. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Para calcular K_{eq}, la constante de equilibrio para una reacción, divida la velocidad inicial de la reacción directa (velocidad 1) entre la velocidad inicial de la reacción inversa (velocidad 1).
   B. La presencia de una enzima no tiene efecto en K_{eq}.
   C. Para una reacción realizada a temperatura constante, la fracción de las moléculas reactivas potenciales que posee suficiente energía cinética para exceder la energía de activación de la reacción es una constante.
   D. Las enzimas y otros catalizadores reducen la energía de activación de las reacciones.
   E. El signo algebraico de ΔG, el cambio de energía libre de Gibbs para una reacción, indica la dirección en la que avanzará una reacción.
6. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Tal como se usa en bioquímica, la concentración de estado estándar para productos y reactivos distintos de protones es de 1 mol.
   B. ΔG es una función del logaritmo de K_{eq}.
   C. Cuando se usa en la cinética de la reacción, el término "espontaneidad" se refiere a si la reacción tal como está expresada se favorece para avanzar de izquierda a derecha.
   D. $\Delta G°$ denota el cambio en la energía libre que acompaña a la transición del estado estándar al equilibrio.
   E. Al alcanzar el equilibrio, caen a cero las velocidades de la reacción directa e inversa.
7. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Las enzimas reducen la energía de activación para una reacción.
   B. Las enzimas disminuyen a menudo la energía de activación al desestabilizar los intermedios del estado de transición.
   C. Los residuos de histidilo en el sitio activo ayudan frecuentemente a la catálisis actuando como donantes o receptores de protones.
   D. Algunas enzimas emplean la catálisis covalente para proporcionar una ruta de reacción alternativa.
   E. La presencia de una enzima no tiene efecto sobre $\Delta G°$.
8. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Para la mayoría de las enzimas, la velocidad de reacción inicial, v_i, muestra una dependencia hiperbólica de [S].
   B. Cuando [S] es mucho más bajo que K_m, el término K_m + [S] en la ecuación de Michaelis-Menten se acerca a K_m. Bajo estas condiciones, la velocidad de catálisis es una función lineal de [S].
   C. Las concentraciones molares de sustratos y productos son iguales cuando la velocidad de una reacción catalizada por enzimas alcanza la mitad de su valor máximo potencial ($V_{máx}/2$).
   D. Se dice que una enzima se ha saturado con sustrato cuando al subir sucesivamente [S] no produce un aumento significativo en v_i.
   E. Cuando se realizan mediciones de velocidad de estado estacionario, la concentración de sustratos debería exceder en gran medida a la del catalizador de la enzima.
9. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. Ciertas enzimas monoméricas exhiben una cinética sigmoidal de velocidad inicial.
   B. La ecuación de Hill se usa para realizar análisis cuantitativos del comportamiento cooperativo de enzimas o proteínas portadoras como la hemoglobina o la calmodulina.
   C. Para una enzima que exhibe unión cooperativa de sustrato, se dice que un valor de n (coeficiente de Hill) mayor que la unidad muestra una cooperatividad positiva.
   D. Se dice que una enzima que cataliza una reacción entre dos o más sustratos opera mediante un mecanismo secuencial si los sustratos deben unirse en un orden fijo.
   E. Los grupos protésicos permiten a las enzimas agregar grupos químicos más allá de los presentes en las cadenas laterales de aminoácidos.
10. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
   A. IC_{50} es un término operacional simple para expresar la potencia de un inhibidor.

B. Las representaciones de Lineweaver-Burk y Dixon emplean versiones reorganizadas de la ecuación de Michaelis-Menten para generar representaciones lineales del comportamiento y la inhibición cinéticos.
C. Se puede usar un gráfico de $1/v_i$ *versus* 1/ [S] para evaluar el tipo y la afinidad de un inhibidor.
D. Los inhibidores simples no competitivos reducen la K_m aparente para un sustrato.
E. Los inhibidores no competitivos tienen típicamente poca o ninguna semejanza estructural con el(los) sustrato(s) de una reacción catalizada por enzima.

11. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. Para una enzima dada, las concentraciones intracelulares de sus sustratos tienden a estar cerca de sus valores de K_m.
B. El secuestro de ciertas rutas dentro de los orgánulos intracelulares facilita la tarea de la regulación metabólica.
C. El primer paso en una ruta bioquímica donde el control regulatorio puede ser ejercido de manera eficiente es el primer paso comprometido.
D. La regulación de retroalimentación se refiere al control alostérico de un paso temprano en una ruta bioquímica por el(los) producto(s) final(es) de esa ruta.
E. El control metabólico es más efectivo cuando uno de los pasos más rápidos en un camino se dirige a la regulación.

12. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. El efecto de Bohr se refiere a la liberación de protones que ocurre cuando el oxígeno se une a la desoxihemoglobina.
B. Poco después del nacimiento de un bebé, la síntesis de la cadena α experimenta una inducción rápida hasta que comprende 50% del tetrámero de hemoglobina.
C. La cadena β de la hemoglobina fetal está presente durante la gestación.
D. El término talasemia se refiere a cualquier defecto genético que resulte en la ausencia parcial o total de las cadenas α o β de la hemoglobina.
E. La conformación tensa de la hemoglobina se estabiliza mediante varios puentes salinos que se forman entre las subunidades.

13. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. El impedimento estérico por la histidina E7 juega un papel crítico en el debilitamiento de la afinidad de la hemoglobina por el monóxido de carbono (CO, *carbon monoxide*).
B. La anhidrasa carbónica juega un papel crítico en la respiración en virtud de su capacidad para descomponer el 2,3-bisfosfoglicerato en los pulmones.
C. La hemoglobina S se distingue por una mutación genética que sustituye a Glu6 en la subunidad β con Val, creando un parche adhesivo en su superficie.
D. La oxidación del hierro hem del estado +2 al +3 anula la capacidad de la hemoglobina de unirse al oxígeno.
E. Las diferencias funcionales entre la hemoglobina y la mioglobina reflejan, en gran medida, diferencias en su estructura cuaternaria.

14. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. El relé de carga de la red de tripsina hace que la serina del sitio activo sea un nucleófilo más fuerte.
B. La constante de Michaelis es la concentración de sustrato en la que la velocidad de la reacción es la mitad del máximo.
C. Durante las reacciones de transaminación, ambos sustratos se unen a la enzima antes de que se libere cualquiera de los productos.
D. Los residuos de histidina actúan como ácidos y como bases durante la catálisis por una aspartato proteasa.
E. Muchas coenzimas y cofactores se derivan de las vitaminas.

15. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA.
A. Las enzimas interconvertibles cumplen funciones clave en las redes reguladoras integradas.
B. La fosforilación de una enzima altera a menudo su eficacia catalítica.
C. Los "segundos mensajeros" actúan como extensiones intracelulares o sustitutos de las hormonas y los impulsos nerviosos que afectan a los receptores de la superficie celular.
D. La capacidad de las proteínas cinasas para catalizar la reacción inversa que elimina el grupo fosforilo es clave para la versatilidad de este mecanismo regulador molecular.
E. La activación de cimógeno por proteólisis parcial es irreversible en condiciones fisiológicas.

16. ¿Cuál de los siguientes enunciados NO es un beneficio obtenido al incorporar iones de metales de transición fisiológicamente esenciales en complejos organometálicos?
A. Optimización de la potencia del ácido de Lewis del metal unido.
B. Capacidad para construir complejos que contienen múltiples iones de metales de transición.
C. Atenuación de la producción de especies reactivas de oxígeno.
D. Protección contra la oxidación no deseada.
E. Hacer que el metal de transición unido sea multivalente.

17. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones NO es una función potencial de los metales de transición fisiológicamente esenciales?
A. Unión de moléculas de gas diatómico.
B. Portador de protones.
C. Estabilización de la conformación proteica.
D. Mejora de la nucleofilia del agua.
E. Portador de electrones.

18. La intoxicación aguda por metales pesados puede tratarse de la siguiente manera:
A. Administración de diuréticos.
B. Ingestión de agentes quelantes.
C. Hemodiálisis.
D. Todo lo anterior.
E. Ninguna de las anteriores.

19. ¿Cuál de las siguientes opciones es el nombre de un motivo de unión de DNA organometálico común?
A. Dedo de zinc.
B. Molibdopterina.
C. Centro Fe-S.
D. Todo lo anterior.
E. Ninguno de los anteriores

SECCIÓN

III

Bioenergética

CAPÍTULO

11

Bioenergética: la función del ATP

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Exponer las leyes primera y segunda de la termodinámica y comprender cómo se aplican a los sistemas biológicos.
- Explicar qué significan los términos energía libre, entropía, entalpía, exergónica y endergónica.
- Apreciar cómo las reacciones que son endergónicas pueden ser conducidas por acoplamiento a aquellas que son exergónicas en los sistemas biológicos.
- Explicar el papel del potencial de transferencia de grupo, el trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) y otros trifosfatos de nucleótidos en la transferencia de energía libre desde procesos exergónicos a endergónicos, el cual les permite actuar como la "moneda de energía" de las células.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioenergética, o termodinámica bioquímica, es el estudio de los cambios de energía que acompañan a las reacciones bioquímicas. Los sistemas biológicos son esencialmente **isotérmicos** y utilizan energía química para alimentar los procesos vivos. El modo en que un animal obtiene combustible adecuado de su alimento, con el fin de proporcionar esta energía, es básico para la comprensión de la nutrición y el metabolismo normales. La muerte por **inanición** ocurre cuando las reservas de energía disponibles se agotan, y ciertas formas de desnutrición se asocian con un desequilibrio energético (**marasmo**). Las hormonas tiroideas controlan la **velocidad metabólica** (velocidad de liberación de energía) y, si no funcionan bien, se produce una enfermedad. El exceso de almacenamiento de energía excedente causa **obesidad**, un padecimiento cada vez más común de la sociedad occidental que predispone a muchas enfermedades, incluyendo las cardiovasculares y la diabetes mellitus tipo 2, y reduce la esperanza de vida.

LA ENERGÍA LIBRE ES LA ENERGÍA ÚTIL EN UN SISTEMA

El cambio de Gibbs en **energía libre** (ΔG) es esa porción del cambio de energía total en un sistema que está disponible para hacer el trabajo, es decir, la energía útil, también conocida como el potencial químico.

Los sistemas biológicos se ajustan a las leyes generales de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica establece que la **energía** total de un sistema, incluyendo **su entorno, permanece constante**. Esto implica que dentro del sistema total, la energía no se pierde ni se gana durante ningún cambio. Sin embargo, la energía puede transferirse de una parte del sistema a otra, o bien transformarse en otra forma de energía. En los sistemas vivos, la energía químí-

ca puede transformarse en calor o en energía eléctrica, radiante o mecánica.

La segunda ley de la termodinámica establece que la **entropía total de un sistema debe aumentar si un proceso se produce espontáneamente**. La **entropía** es la extensión del desorden o la aleatoriedad del sistema, y se vuelve máxima a medida que se acerca el equilibrio. En condiciones de temperatura y presión constantes, la relación entre el cambio de energía libre (ΔG) de un sistema de reacción y el cambio de entropía (ΔS) se expresa mediante la siguiente ecuación, que combina las dos leyes de la termodinámica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

donde ΔH es el cambio en la **entalpía** (calor) y T es la temperatura absoluta.

En las reacciones bioquímicas, dado que ΔH es aproximadamente igual al **cambio total en la energía interna de la reacción o** ΔE, la relación anterior puede expresarse de la siguiente manera:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Si ΔG es negativo, la reacción procede de forma espontánea con pérdida de energía libre, es decir, es **exergónica**. Si ΔG es, además, de gran magnitud, la reacción prácticamente se completa y es esencialmente irreversible. Por otro lado, si ΔG es positivo, la reacción sólo tiene lugar si se puede obtener energía libre, es decir, es **endergónica**. Si, además, la magnitud de ΔG es grande, el sistema es estable, con poca o ninguna tendencia a que se produzca una reacción. Si ΔG es cero, el sistema está en equilibrio y no se produce ningún cambio neto.

Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, ΔG^0 es el cambio estándar de energía libre. Para reacciones bioquímicas, un estado estándar se define como tener un pH de 7.0. El cambio estándar de energía libre en este estado estándar se denota por $\Delta G^{0'}$.

El cambio estándar de energía libre se puede calcular a partir de la constante de equilibrio K_{eq}.

$$\Delta G^{0'} = -RT\ln K'_{eq}$$

donde R es la constante del gas y T la temperatura absoluta (véase capítulo 8). Es importante observar que el ΔG real puede ser mayor o menor que $\Delta G^{0'}$, en dependencia de las concentraciones de los diferentes reactivos, incluyendo el disolvente, diversos iones y proteínas.

En un sistema bioquímico, una enzima sólo acelera el logro del equilibrio; nunca altera las concentraciones finales de los reactivos en equilibrio.

LOS PROCESOS ENDERGÓNICOS AVANZAN ACOPLÁNDOSE A PROCESOS EXERGÓNICOS

Los procesos vitales, por ejemplo, reacciones sintéticas, contracción muscular, conducción de impulsos nerviosos y transporte activo, obtienen energía por enlace químico, o **acoplamiento**, a reacciones oxidativas. En su forma más simple, este tipo de acoplamiento puede representarse como se muestra en la **figura 11-1**. La

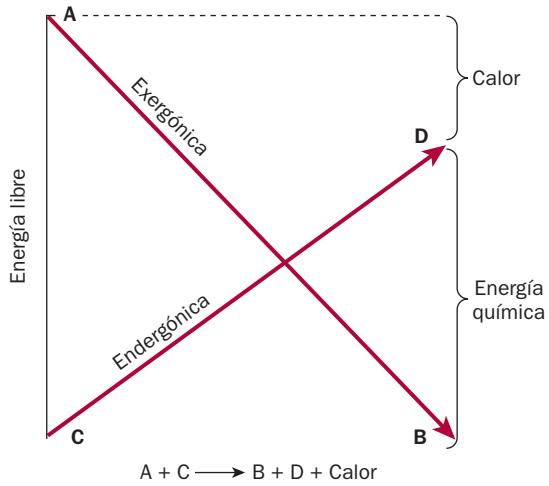


FIGURA 11-1 **Acoplamiento de una reacción exergónica a una endergónica.**

conversión del metabolito A en metabolito B ocurre con la liberación de energía libre y se combina con otra reacción en la que se requiere energía libre para convertir el metabolito C en metabolito D. Los términos **exergónico** y **endergónico**, en lugar de los términos químicos normales "exotérmico" y "endotérmico", se usan para indicar que un proceso está acompañado de pérdida o ganancia, respectivamente, de energía libre en cualquier forma, no necesariamente como calor. En la práctica, un proceso endergónico no puede existir de forma independiente, sino que debe ser un componente de un sistema exergónico-endergónico acoplado, en el que el cambio neto general sea exergónico. Las reacciones exergónicas se denominan **catabolismo** (por lo general, descomposición u oxidación de las moléculas de combustible), mientras que las reacciones sintéticas que crean las sustancias se denominan **anabolismo**. Los procesos combinados catabólico y anabólico constituyen el **metabolismo**.

Si la reacción que se muestra en la figura 11-1 se desplaza de izquierda a derecha, entonces el proceso general debe ir acompañado por una pérdida de energía libre en forma de calor. Podría concebirse un posible mecanismo de acoplamiento, si un intermediario obligatorio común (I) tomara parte en ambas reacciones, es decir,

$$A + C \rightarrow 1 \rightarrow B + D$$

En los sistemas biológicos, algunas reacciones exergónicas y endergónicas se combinan de esta manera. Este tipo de sistema tiene un mecanismo integrado para el control biológico de la velocidad de procesos oxidativos, ya que el intermediario obligatorio común permite que la velocidad de utilización del producto de la ruta sintética (D) determine, por acción de masa, la velocidad a la que A se oxida. De hecho, estas relaciones proporcionan una base para el concepto de **control respiratorio**, el proceso que evita que un organismo se descontrole. Una extensión del concepto de acoplamiento se proporciona mediante reacciones de deshidrogenación, que están acopladas a hidrogenaciones por un transportador intermediario (**figura 11-2**).

Un método alternativo para acoplar un proceso exergónico a un proceso endergónico final es la síntesis de un compuesto de alto

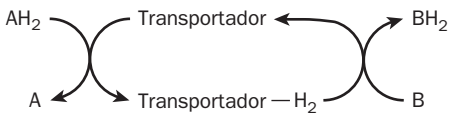


FIGURA 11-2 **Acoplamiento de reacciones de deshidrogenación e hidrogenación por un transportador intermediario.**

potencial energético en la reacción exergónica y la incorporación de este nuevo compuesto a la reacción endergónica, efectuando así una transferencia de energía libre desde la ruta exergónica hasta la endergónica. La ventaja biológica de este mecanismo es que el compuesto de alto potencial de energía, ~Ⓔ, a diferencia de I en el sistema anterior, no necesita estar relacionado estructuralmente con A, B, C o D, lo que permite que Ⓔ sirva como un transductor de energía desde un amplio rango de reacciones exergónicas a un rango igualmente amplio de reacciones o procesos endergónicos, tales como biosíntesis, contracción muscular, excitación nerviosa y transporte activo. En la célula viva, el principal compuesto de alta energía intermediario o transportador es el **ATP** (**figura 11-3**).

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA DESEMPEÑAN UN PAPEL CENTRAL EN LA CAPTURA Y TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

Para mantener los procesos vivos, todos los organismos deben obtener suministros de energía libre de su entorno. Los organismos **autótrofos** utilizan procesos exergónicos simples; por ejemplo, la energía de la luz solar (plantas verdes), la reacción $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (algunas bacterias). Por otro lado, los organismos **heterótrofos** obtienen energía libre al acoplar su metabolismo a la descomposición de moléculas orgánicas complejas en su entorno. En todos estos organismos, el ATP desempeña un papel central en la transferencia de energía libre de los procesos exergónicos a endergónicos. El ATP es un nucleótido que consiste en el nucleósido adenosina (adenina unida a la ribosa) y tres grupos fosfato (véase capítulo 32). En sus reacciones en la célula, funciona como el complejo Mg^{2+} (figura 11-3).

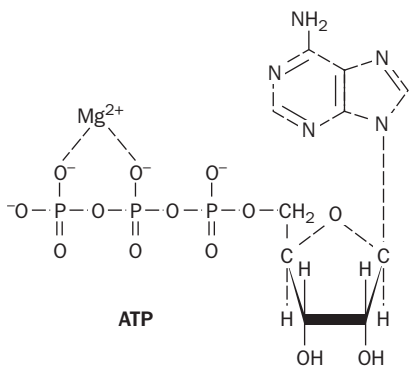


FIGURA 11-3 **El trifosfato de adenosina (ATP) se muestra como el complejo de magnesio.**

La importancia de los fosfatos en el metabolismo intermedio se hizo evidente con el descubrimiento del papel del ATP, el adenosín difosfato (ADP, *adenosine diphosphate*) y el fosfato inorgánico (P_i, *inorganic phosphate*) en la glucólisis (véase capítulo 17).

El valor intermedio para la energía libre de la hidrólisis de ATP tiene una importante relevancia bioenergética

La energía libre estándar de la hidrólisis de varios fosfatos bioquímicamente importantes se muestra en el **cuadro 11-1.** Se puede obtener una estimación de la tendencia comparativa de cada uno de los grupos fosfato para la transferencia a un aceptor adecuado, a partir del $\Delta G^{0'}$ de hidrólisis a 37 °C. Esto se denomina **potencial de transferencia de grupo**. El valor para la hidrólisis del fosfato terminal de ATP divide la lista en dos grupos. Los **fosfatos de baja energía**, que tienen un bajo potencial de transferencia de grupo, ejemplificados por los fosfatos de éster encontrados en los intermediarios de la glucólisis, tienen valores de $G^{0'}$ menores que los del ATP, mientras que en los **fosfatos de alta energía**, con un $G^{0'}$ más negativo, el valor es mayor que el del ATP. Los componentes de este último grupo, incluyendo el ATP, son, usualmente, anhídridos (p. ej., el 1-fosfato de 1,3-bisfosfoglicerato), enolfosfatos (p. ej., fosfoenolpiruvato) y fosfoguanidinas (p. ej., fosfato de creatina, fosfato de arginina).

El símbolo ~Ⓟ indica que el grupo unido al enlace, al transferirse a un aceptor apropiado, da como resultado la transferencia de la mayor cantidad de energía libre. Por tanto, el ATP tiene un alto

CUADRO 11-1 **Energía libre estándar de la hidrólisis de algunos organofosfatos de importancia bioquímica**

	$\Delta G^{0'}$	
Compuesto	**kJ/mol**	**kcal/mol**
Fosfoenolpiruvato	−61.9	−14.8
Carbamoil fosfato	−51.4	−12.3
1,3-bisfosfoglicerato (a 3-fosfoglicerato)	−49.3	−11.8
Fosfato de creatina	−43.1	−10.3
ATP → AMP + PP_i	−32.2	−7.7
ATP → ADP + P_i	−30.5	−7.3
Glucosa-1-fosfato	−20.9	−5.0
PP_i	−19.2	−4.6
Fructosa-6-fosfato	−15.9	−3.8
Glucosa-6-fosfato	−13.8	−3.3
Glicerol-3-fosfato	−9.2	−2.2

Abreviaturas: PP_i (*pyrophosphate*), pirofosfato; P_i (*inorganic orthophosphate*), ortofosfato inorgánico.
Nota: Todos los valores están tomados de Jencks WP. Free energies of hydrolysis and decarboxylation. In: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, vol 1. *Physical and Chemical Data*. Fasman GD (ed.). *CRC Press* 1976:296-304, excepto los de PP_i, que fueron tomados de Frey PA, Arabshahi A. Standard free-energy change for the hydrolysis of the alpha, beta-phosphoanhydride bridge in ATP. *Biochemistry* 1995;34:11307. Los valores difieren entre los investigadores, en dependencia de las condiciones precisas bajo las cuales se realizaron las mediciones.

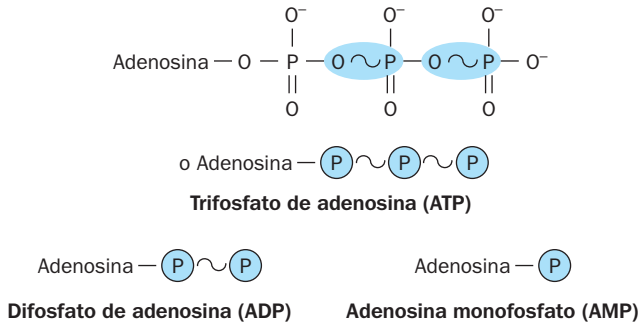


FIGURA 11-4 **Estructura de ATP, ADP y AMP que muestra la posición y el número de fosfatos de alta energía (~Ⓟ).**

potencial de transferencia de grupo, mientras que el fosfato en el monofosfato de adenosina (AMP, *adenosine monophosphate*) es del tipo de baja energía, debido a que es un enlace de éster normal (**figura 11-4**). En las reacciones de transferencia de energía, el ATP puede convertirse en ADP y P_i o, en reacciones que requieren una mayor entrada de energía, en AMP + PP_i (cuadro 11-1).

La posición intermedia de ATP le permite desempeñar un papel importante en la transferencia de energía. El cambio elevado de energía libre en la hidrólisis de ATP se debe al alivio de la repulsión de carga de átomos de oxígeno adyacentes cargados negativamente y a la estabilización de los productos de reacción, en especial el fosfato, como híbridos de resonancia (**figura 11-5**). Otros "compuestos de alta energía" son ésteres de tiol que involucran a la coenzima A (p. ej., acetil-CoA), proteína portadora de acilo, ésteres de aminoácidos implicados en la síntesis de proteínas, *S*-adenosilmetionina (metionina activa), uridina difosfato glucosa (UDPGlc, *uridine diphosphate glucose*) y 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP, *5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate*).

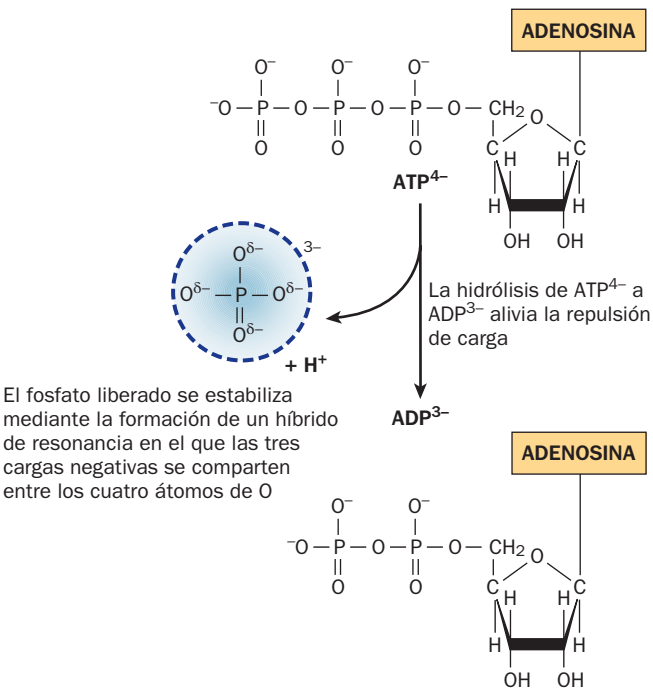


FIGURA 11-5 **Cambio de energía libre en la hidrólisis de ATP a ADP.**

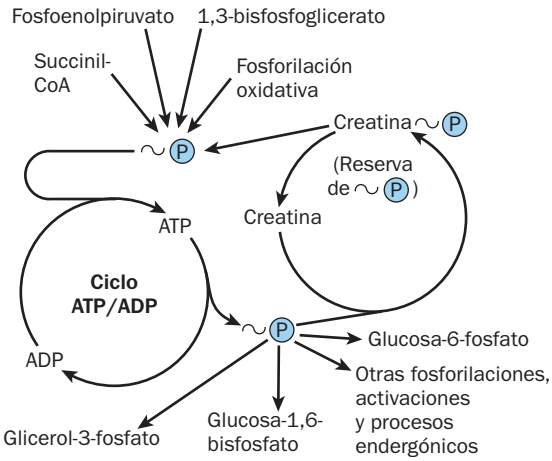


FIGURA 11-6 **Papel del ciclo ATP/ADP en la transferencia de fosfato de alta energía.**

EL ATP ACTÚA COMO LA "MONEDA DE ENERGÍA" DE LA CÉLULA

El alto potencial de transferencia de grupo del ATP le permite actuar como donante de fosfato de alta energía, para formar los compuestos que se encuentran debajo en el cuadro 11-1. Del mismo modo, con las enzimas necesarias, el ADP puede aceptar grupos de fosfato para formar ATP, a partir de los compuestos que están encima del ATP en dicho cuadro. En efecto, un **ciclo ATP/ADP** conecta los procesos que generan ~Ⓟ a aquellos procesos que utilizan ~Ⓟ (**figura 11-6**), consumiendo y regenerando continuamente ATP. Esto ocurre a una velocidad muy rápida, ya que el conjunto total de ATP/ADP es extremadamente pequeño y suficiente para mantener un tejido activo durante sólo unos pocos segundos.

Hay tres fuentes principales de ~Ⓟ que toman parte en la **conservación de energía** o en la **captura de energía**:

1. La **fosforilación oxidativa** es la mayor fuente cuantitativa de ~Ⓟ en organismos aeróbicos. El ATP se genera en la matriz mitocondrial, ya que el O_2 se reduce a H_2O por los electrones que pasan a lo largo de la cadena respiratoria (véase capítulo 13).

2. **Glucólisis.** Una formación neta de dos ~Ⓟ resulta de la formación de lactato a partir de una molécula de glucosa, generada en dos reacciones catalizadas por fosfoglicerato cinasa y piruvato cinasa, respectivamente (véase figura 17-2).

3. **El ciclo del ácido cítrico.** Una ~Ⓟ se genera directamente en el ciclo en el paso de succinato tiocinasa (véase figura 16-3).

Los **fosfágenos** actúan como formas de almacenamiento del potencial de transferencia de grupo e incluyen el **fosfato de creatina**, que se produce en el músculo esquelético, el corazón, los espermatozoides y el cerebro de los vertebrados, y el **fosfato de arginina**, que se produce en el músculo de los invertebrados. Cuando el ATP se utiliza rápidamente como fuente de energía para la contracción muscular, los fosfágenos permiten que se mantengan sus concentraciones, pero cuando la relación ATP/ADP es alta, su concentración puede aumentar para actuar como almacén de energía (**figura 11-7**).

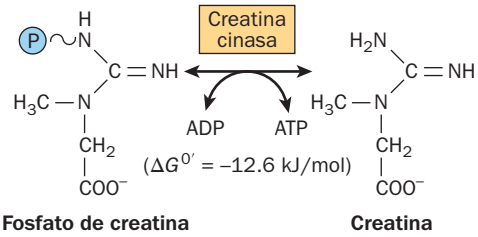
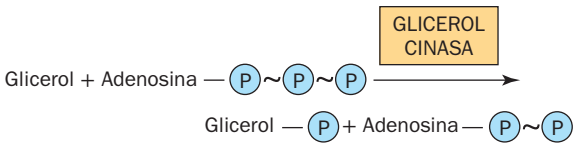


FIGURA 11-7 **Transferencia de fosfato de alta energía entre el ATP y la creatina.**

Cuando el ATP actúa como donante de fosfato para formar compuestos de menor energía libre de hidrólisis (cuadro 11-1), el grupo fosfato se convierte, invariablemente, en uno de baja energía. Por ejemplo, la fosforilación de glicerol para formar glicerol-3-fosfato:



El ATP permite el acoplamiento de reacciones termodinámicamente desfavorables a unas favorables

Las reacciones endergónicas no pueden avanzar sin una entrada de energía libre. Por ejemplo, la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato, la primera reacción de la glucólisis (véase figura 17-2):

$$\text{Glucosa} + P_i \rightarrow \text{Glucosa-6-fosfato} + H_2O$$

$$(\Delta G^{0'}) = +13.8 \text{ kJ/mol} \qquad (1)$$

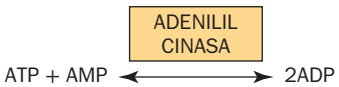
es altamente endergónica y no puede proceder en condiciones fisiológicas. Por tanto, para que tenga lugar, la reacción debe acoplarse con otra más exergónica, tal como la hidrólisis del fosfato terminal de ATP.

$$\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + P_i \ (\Delta G^{0'} = -30.5 \text{ kJ/mol}) \qquad (2)$$

Cuando (1) y (2) se acoplan en una reacción catalizada por hexocinasa, la fosforilación de glucosa transcurre con facilidad en una reacción altamente exergónica, que en condiciones fisiológicas es irreversible. Muchas reacciones de "activación" siguen este patrón.

La adenilil cinasa (miocinasa) interconvierte nucleótidos de adenina

Esta enzima está presente en la mayoría de las células. Cataliza la siguiente reacción:



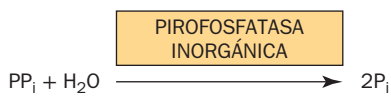
La adenilil cinasa es importante para el mantenimiento de la homeostasis energética en las células, porque permite:

1. Que el potencial de transferencia de grupo en ADP se use en la síntesis del ATP.
2. Que el AMP formado como consecuencia de la activación de reacciones que involucran a ATP refosforile a ADP.
3. Que el AMP aumente la concentración cuando el ATP se agote, con el fin de que pueda actuar como una señal metabólica (alostérica) para aumentar la tasa de reacciones catabólicas, lo que a su vez conduce a la generación de más ATP (véase capítulo 14).

Cuando el ATP forma AMP se produce pirofosfato inorgánico (PP_i)

El ATP también puede hidrolizarse directamente a AMP, con la liberación de PP_i (cuadro 11-1). Esto ocurre, por ejemplo, en la activación de ácidos grasos de cadena larga (véase capítulo 22).

Esta reacción se acompaña de la pérdida de energía libre en forma de calor, lo que asegura que la reacción de activación vaya a la derecha, y se ve favorecida por la división hidrolítica de PP_i, catalizada por **pirofosfatasa inorgánica**, una reacción que tiene un gran $\Delta G^{0'}$ de −19.2 kJ/mol. Tenga en cuenta que las activaciones, a través de la ruta del pirofosfato, dan como resultado la pérdida de dos ~Ⓟ en lugar de una, como ocurre cuando se forman ADP y P_i.



Una combinación de las reacciones anteriores hace posible que el fosfato se recicle y que los nucleótidos de adenina se intercambien (**figura 11-8**).

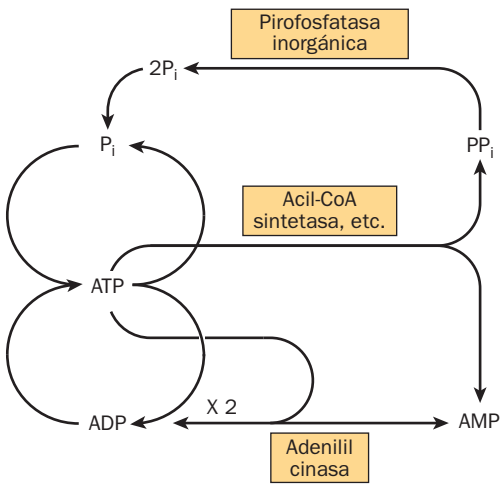
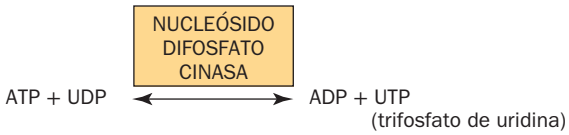


FIGURA 11-8 **Ciclos de fosfato e intercambio de nucleótidos de adenina.**

Otros nucleósidos trifosfatos participan en el potencial de transferencia de grupo

Por medio de las **nucleósido difosfato (NDP, *nucleoside diphosphate*) cinasas**, UTP, GTP y CTP se pueden sintetizar a partir de sus difosfatos, por ejemplo, UDP reacciona con ATP para formar UTP.



Todos estos trifosfatos participan en fosforilaciones en la célula. De manera similar, las **nucleósido monofosfato (NMP, *nucleoside monophosphate*) cinasas** específicas catalizan la formación de NDP a partir de los monofosfatos correspondientes.

Por tanto, la adenilil cinasa es una NMP cinasa especializada.

RESUMEN

- Los sistemas biológicos usan energía química para impulsar los procesos vivos.
- Las reacciones exergónicas se producen espontáneamente con pérdida de energía libre (ΔG es negativo). Las reacciones endergónicas requieren la ganancia de energía libre (ΔG es positivo) y ocurren sólo cuando se combinan con reacciones exergónicas.
- El ATP actúa como la "moneda de energía" de la célula, transfiriendo energía libre derivada de sustancias de mayor potencial energético a aquellas de menor potencial energético.

REFERENCIAS

Haynie D. *Biological Thermodynamics*. Cambridge University Press; 2008.

Nicholls DG, Ferguson S. *Bioenergetics*. 4th ed. Academic Press; 2013.

CAPÍTULO 12

Oxidación biológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar el significado del potencial redox y cómo se puede usar para predecir la dirección del flujo de electrones en los sistemas biológicos.
- Identificar las cuatro clases de enzimas (oxidorreductasas) involucradas en reacciones de oxidación y reducción.
- Describir la acción de las oxidasas y brindar ejemplos de dónde desempeñan un papel importante en el metabolismo.
- Indicar las dos funciones principales de las deshidrogenasas y explicar la importancia del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD, *nicotinamide adenine dinucleotide*) y de las deshidrogenasas unidas a la riboflavina en las vías metabólicas, como la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria.
- Identificar los dos tipos de enzimas clasificadas como hidroperoxidasas; indicar las reacciones que ellas catalizan y explicar por qué son importantes.
- Presentar los dos pasos de reacciones catalizadas por las oxigenasas e identificar los dos subgrupos de esta clase de enzimas.
- Apreciar el papel del citocromo P450 en la desintoxicación de fármacos y la síntesis de esteroides.
- Describir la reacción catalizada por la superóxido dismutasa y explicar cómo protege los tejidos de la toxicidad del oxígeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Desde el punto de vista químico, la **oxidación** se define como la eliminación de electrones y la **reducción** como la ganancia de electrones. Por tanto, la oxidación de una molécula (el donador de electrones) siempre va acompañada de la reducción de una segunda molécula (el aceptor de electrones). Este principio de oxidación-reducción se aplica también a los sistemas bioquímicos y es un concepto importante que subyace a la comprensión de la naturaleza de la oxidación biológica. Tenga en cuenta que muchas oxidaciones biológicas pueden tener lugar sin la participación del oxígeno molecular, por ejemplo, las deshidrogenaciones. La vida de los animales superiores depende absolutamente de un suministro de oxígeno para la **respiración**, proceso por el cual las células obtienen energía en forma de ATP, a partir de la reacción controlada de hidrógeno con oxígeno para formar agua. Además, el oxígeno molecular se incorpora en una variedad de sustratos mediante enzimas designadas como **oxigenasas**; muchos fármacos, contaminantes y carcinógenos químicos (xenobióticos) son metabolizados por enzimas de esta clase, conocida como el **sistema del citocromo P450**. La administración de oxígeno puede salvar vidas en el tratamiento de pacientes con insuficiencia respiratoria o circulatoria.

LOS CAMBIOS ENERGÉTICOS LIBRES PUEDEN EXPRESARSE EN TÉRMINOS DE POTENCIAL DE REDOX

En reacciones que implican oxidación y reducción, el cambio de energía libre es proporcional a la tendencia de los reactivos a donar o aceptar electrones. Por consiguiente, además de expresar el cambio de energía libre en términos de $\Delta G^{0'}$(véase capítulo 11), es posible, de manera análoga, expresarlo numéricamente como un **potencial de oxidación-reducción** o **redox** (E'_0). Desde el punto de vista químico, el potencial redox de un sistema (E_0), por lo general se compara con el potencial del electrodo de hidrógeno (0.0 V en un pH 0.0). Sin embargo, para los sistemas biológicos, el poten-

CUADRO 12-1 Algunos potenciales redox de especial interés en sistemas de oxidación de mamíferos

Sistema	E'_0 Volts
H^+/H_2	−0.42
NAD^+/NADH	−0.32
Lipoato; ox/red	−0.29
Acetoacetato/3-hidroxibutirato	−0.27
Piruvato/lactato	−0.19
Oxaloacetato/malato	−0.17
Fumarato/succinato	+0.03
Citocromo *b*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.08
Ubiquinona; ox/red	+0.10
Citocromo c_1; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.22
Citocromo *a*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.29
Oxígeno/agua	+0.82

cial redox (E'_0) se expresa normalmente a pH 7.0, en cuyo pH el potencial de electrodo del electrodo de hidrógeno es –0.42 V. Los potenciales redox de algunos sistemas redox de especial interés en la bioquímica de mamíferos se muestran en el **cuadro 12-1**. Las posiciones relativas de los sistemas redox en la tabla permiten predecir la dirección del flujo de electrones de una pareja redox a otra.

Las enzimas involucradas en la oxidación y reducción se llaman oxidorreductasas y se clasifican en cuatro grupos: **oxidasas**, **deshidrogenasas**, **hidroperoxidasas** y **oxigenasas.**

LAS OXIDASAS UTILIZAN OXÍGENO COMO ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Las oxidasas catalizan la eliminación de hidrógeno de un sustrato utilizando oxígeno como aceptor de hidrógeno.* Ellas forman agua o peróxido de hidrógeno como producto de reacción (**figura 12-1**).

La citocromo oxidasa es una hemoproteína

La **citocromo oxidasa** es una hemoproteína ampliamente distribuida en muchos tejidos, con el grupo prostético hemo típico presente en la mioglobina, la hemoglobina y otros citocromos (véase capítulo 6). Es el componente terminal de la cadena de portadores respiratorios que se encuentra en las mitocondrias (véase capítulo 13) y transfiere electrones resultantes de la oxidación de moléculas de sustrato por deshidrogenasas a su aceptor final, el oxígeno. La acción de la enzima está bloqueada por el **monóxido de carbono,** el **cianuro** y el **sulfuro de hidrógeno**, lo que causa envenenamiento, al impedir la respiración celular. El complejo enzimático de la citocromo oxidasa comprende el hemo a_3 combinado con otro hemo,

*El término "oxidasa" algunas veces se usa colectivamente para denotar todas las enzimas que catalizan reacciones que involucran oxígeno molecular.

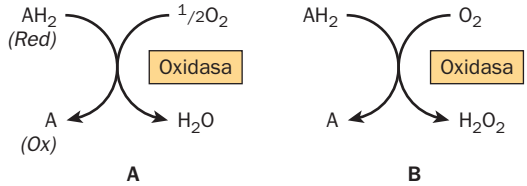


FIGURA 12-1 Oxidación de un metabolito catalizado por una oxidasa (A) formando H_2O y (B) formando H_2O_2.

hemo *a*, en una sola proteína, por lo que también se le denomina **citocromo *aa*$_3$**. Contiene dos moléculas de hemo, cada una con un átomo de Fe que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante la oxidación y la reducción. Además, están presentes dos átomos de cobre, uno asociado a cada unidad de hemo.

Otras oxidasas son flavoproteínas

Las enzimas flavoproteínas contienen **flavín mononucleótido** (**FMN,** *flavin mononucleotide*) o **flavín adenín dinucleótido** (**FAD,** *flavin adenine dinucleotide*) como grupos prostéticos. El FMN y el FAD se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **riboflavina** (véase capítulo 44). El FMN y el FAD suelen estar unidos de manera estrecha, pero no covalentemente, a sus respectivas proteínas apoenzimáticas. Las metaloflavoproteínas contienen uno o más metales como cofactores esenciales. Los ejemplos de oxidasas flavoproteínas incluyen a la **L-aminoácido oxidasa**, una enzima que se encuentra en el riñón con especificidad general para la desaminación oxidativa de los L-aminoácidos de origen natural; la **xantina oxidasa**, que contiene molibdeno y desempeña un papel importante en la conversión de las bases de purina en ácido úrico (véase capítulo 33), además de que es de particular importancia en los animales uricotélicos (véase capítulo 28); y la **aldehído deshidrogenasa**, una enzima ligada a FAD presente en hígados de mamíferos, que contiene molibdeno y hierro no hemo, y actúa sobre aldehídos y sustratos *N*-heterocíclicos. Los mecanismos de oxidación y reducción de estas enzimas son complejos. La evidencia sugiere una reacción de dos pasos, como se muestra en la **figura 12-2**.

LAS DESHIDROGENASAS REALIZAN DOS FUNCIONES PRINCIPALES

Hay una gran cantidad de enzimas en la clase deshidrogenasa. Sus dos funciones principales son las siguientes:

1. Transferencia de hidrógeno de un sustrato a otro en una reacción acoplada de oxidación-reducción (**figura 12-3**). Estas deshidrogenasas a menudo utilizan coenzimas comunes o vehículos de hidrógeno, por ejemplo, dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+). Este tipo de reacción, en la que un sustrato es oxidado/reducido a expensas de otro, es libremente reversible, lo que permite la transferencia de equivalentes reductores dentro de la célula y procesos oxidativos en ausencia de oxígeno, como durante la fase anaeróbica de la glucólisis (véase figura 17-2).
2. Transferencia de electrones en la **cadena respiratoria** del transporte de electrones del sustrato al oxígeno (véase figura 13-3).

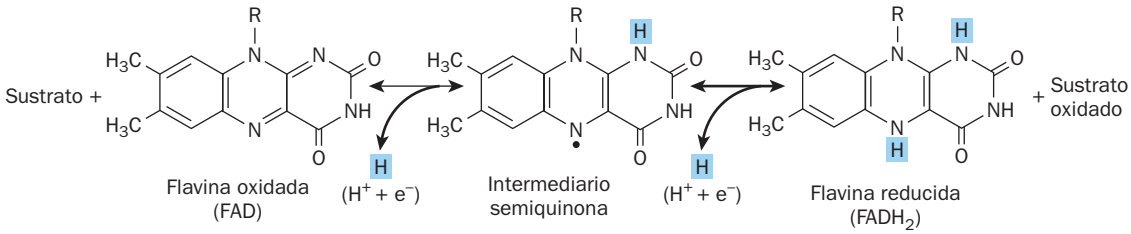
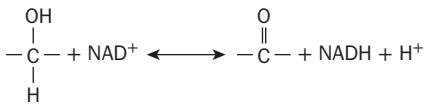


FIGURA 12-2 Oxidorreducción del anillo de isoaloxazina en nucleótidos de flavina a través de un intermediario semiquinona. En las reacciones de oxidación, la flavina (p. ej., FAD) acepta dos electrones y dos H^+ en dos pasos, formando el intermediario semiquinona seguido de la flavina reducida (p. ej., $FADH_2$), y el sustrato se oxida. En la reacción inversa (reducción), la flavina reducida cede dos electrones y dos H^+ de manera que se oxida (por ejemplo, FAD), y el sustrato se reduce.

Muchas deshidrogenasas dependen de coenzimas de nicotinamida

Estas deshidrogenasas usan **NAD^+** o **nicotinamida adenina dinucleótido fosfato** (**$NADP^+$**, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*), o ambos, que se forman en el organismo a partir de la vitamina **niacina** (véase capítulo 44). La estructura de NAD^+ se muestra en la **figura 12-4**. La $NADP^+$ tiene un grupo fosfato esterificado al 2′hidroxilo de su resto de adenosina, pero, por lo demás, es idéntico a la NAD^+. Las formas oxidadas de ambos nucleótidos tienen una carga positiva en el átomo de nitrógeno del resto de nicotinamida, como se indica en la figura 12-4. Las coenzimas se reducen por el sustrato específico de la deshidrogenasa y se vuelven a oxidar por un aceptor de electrones adecuado. Pueden disociarse libre y reversiblemente de sus respectivas apoenzimas.

En general, las **deshidrogenasas ligadas a NAD** catalizan reacciones de oxidorreducción del tipo:



Cuando un sustrato se oxida, pierde dos átomos de hidrógeno y dos electrones. Un N^+ y ambos electrones son aceptados por NAD^+ para formar NADH, y el otro H^+ es liberado (figura 12-4). Muchas de estas reacciones ocurren en las vías oxidativas del metabolismo, particularmente en la glucólisis (véase capítulo 17) y el ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16). NADH se genera en estas vías a través de la oxidación de las moléculas de combustible, y NAD^+ se regenera mediante la oxidación de NADH, ya que transfiere los electrones a O_2 a través de la cadena respiratoria en las mitocondrias, proceso que conduce a la formación de ATP (véase capítulo 13). Las **deshidrogenasas ligadas a NADP** se encuentran, de manera característica, en vías biosintéticas, donde se requieren reacciones reductoras, como en la vía extramitocondrial de la síntesis de ácidos grasos (véase capítulo 23) y la síntesis de esteroides (véase capítulo 26), así como en la vía de la pentosa fosfato (véase capítulo 20).

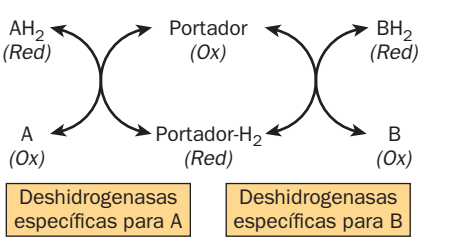


FIGURA 12-3 Oxidación de un metabolito catalizado por deshidrogenasas acopladas.

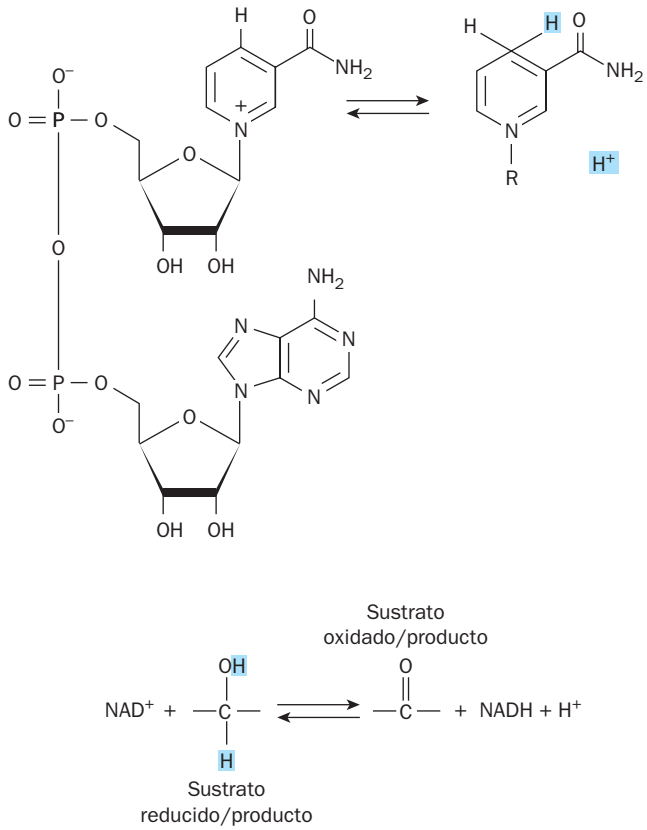
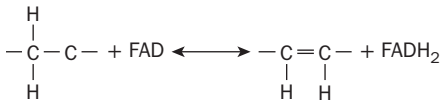


FIGURA 12-4 Oxidación y reducción de coenzimas de nicotinamida. Las coenzimas de nicotinamida consisten en un anillo de nicotinamida unido a una adenosina a través de una ribosa y un grupo fosfato, que forma un dinucleótido. Se muestran NAD^+/NADH, pero $NADP^+$/NADPH son idénticos, excepto que tienen un grupo fosfato esterificado al 2′OH de la adenosina. Una reacción de oxidación implica la transferencia de dos electrones y un H^+ del sustrato al anillo de nicotinamida de NAD^+, que forma NADH y el producto oxidado. El hidrógeno restante del par de hidrógeno eliminado del sustrato permanece libre como ion de hidrógeno. NADH se oxida a NAD^+ por la reacción inversa.

Otras deshidrogenasas dependen de la riboflavina

Como se describió anteriormente, los **grupos flavina tales como FMN y FAD** están asociados con deshidrogenasas, así como con oxidasas. El FAD es el aceptor de electrones en reacciones del tipo:



El FAD acepta dos electrones y dos H^+ en la reacción (figura 12-2), formando **$FADH_2$**. Los grupos de flavina generalmente están más unidos a sus apoenzimas que las coenzimas de nicotinamida. La mayoría de las **deshidrogenasas unidas a la riboflavina** están relacionadas con el transporte de electrones en (o a) la cadena respiratoria (véase capítulo 13). La **NADH deshidrogenasa** actúa como un transportador de electrones entre NADH y los componentes de mayor potencial redox (véase figura 13-3). Otras deshidrogenasas, tales como **succinato deshidrogenasa**, **acil-CoA deshidrogenasa** y equivalentes reductores de la transferencia **mitocondrial de glicerol-3-fosfato deshidrogenasa** transfieren equivalentes reductores directamente del sustrato a la cadena respiratoria (véase figura 13-5). Otro papel de las deshidrogenasas dependientes de la flavina es en la deshidrogenación (por **dihidrolipoil deshidrogenasa**) de lipoato reducido, un intermediario en la descarboxilación oxidativa de piruvato y α-cetoglutarato (véanse figuras 13-5 y 17-5). La **flavoproteína de transferencia de electrones** (**ETF,** *electron-transferring flavoprotein*) es un portador intermediario de electrones entre la acil-CoA deshidrogenasa y la cadena respiratoria (véase figura 13-5).

Los citocromos también pueden ser considerados como deshidrogenasas

Los **citocromos** son hemoproteínas que contienen hierro en las que el átomo de hierro oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante la oxidación y la reducción. Excepto por la citocromo oxidasa (descrita previamente), se clasifican como deshidrogenasas. En la cadena respiratoria, están implicados desde portadores de electrones de las flavoproteínas por un lado, hasta la citocromo oxidasa por el otro (véase figura 13-5). Varios citocromos identificables se producen en la cadena respiratoria, es decir, los citocromos *b*, c_1, *c* y la citocromo oxidasa (aa_3). Los citocromos también se encuentran en otros lugares, por ejemplo, el retículo endoplasmático (citocromos P450 y b_5) y en células vegetales, bacterias y levaduras.

LAS HIDROPEROXIDASAS UTILIZAN PERÓXIDO DE HIDRÓGENO O UN PERÓXIDO ORGÁNICO COMO SUSTRATO

Dos tipos de enzimas que se encuentran tanto en animales como en plantas entran en la categoría **hidroperoxidasa**: **peroxidasas** y **catalasa**.

Las hidroperoxidasas tienen un papel importante en la protección del cuerpo contra los efectos nocivos de las **especies reactivas de oxígeno** (**ROS,** *reactive oxygen species*). Las ROS son moléculas muy reactivas que contienen oxígeno, como los peróxidos, los cuales se forman durante el metabolismo normal, pero pueden ser dañinos si se acumulan. Se cree que contribuyen a la causalidad de enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis, así como también al proceso de envejecimiento en general (véanse capítulos 21, 44 y 54).

Las peroxidasas reducen los peróxidos usando diversos aceptadores de electrones

Las peroxidasas se encuentran en la leche y en los leucocitos, las plaquetas y otros tejidos implicados en el metabolismo de los eicosanoides (véase capítulo 23). Su grupo prostético es el **protohemo**. En la reacción catalizada por la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno se reduce a expensas de varias sustancias que actúan como aceptores de electrones, como el ascorbato (vitamina C), las quinonas y el citocromo *c*. La reacción catalizada por la peroxidasa es compleja, pero la reacción general es como sigue:

$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{PEROXIDASA}} 2H_2O + A$$

En los eritrocitos y otros tejidos, la enzima de **glutatión peroxidasa**, que contiene **selenio** como grupo prostético, cataliza la destrucción de H_2O_2 e hidroperóxidos lipídicos mediante la conversión de glutatión reducida a su forma oxidada, protegiendo los lípidos de la membrana y la hemoglobina contra la oxidación con peróxidos (véase capítulo 21)

La catalasa usa peróxido de hidrógeno como donador de electrones y aceptador de electrones

La **catalasa** es una hemoproteína que contiene cuatro grupos hemo. Puede actuar como una peroxidasa, catalizando reacciones del tipo mostrado anteriormente, pero también es capaz de catalizar la descomposición del H_2O_2 formado por la acción de las oxigenasas en el agua y el oxígeno:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CATALASA}} 2H_2O + O_2$$

Esta reacción utiliza una molécula de H_2O_2 como sustrato donador de electrones y otra molécula de H_2O_2 como oxidante o aceptor de electrones. Es una de las reacciones enzimáticas más rápidas que se conocen, ya que destruye millones de moléculas de H_2O_2 potencialmente dañinas por segundo. En la mayoría de las condiciones *in vivo*, la actividad de la catalasa peroxidasa parece favorecerse. La catalasa se encuentra en la sangre, la médula ósea, las membranas mucosas, el riñón y el hígado. Los **peroxisomas** se encuentran en muchos tejidos, incluido el hígado. Son ricos en oxidasas y en catalasas. Por tanto, las enzimas que producen H_2O_2 se agrupan con la enzima que lo descompone. Sin embargo, los sistemas de transporte de electrones mitocondriales y microsomales, así como la xantina oxidasa, se deben considerar como fuentes adicionales de H_2O_2.

LAS OXIGENASAS CATALIZAN LA TRANSFERENCIA DIRECTA Y LA INCORPORACIÓN DE OXÍGENO A UNA MOLÉCULA DE SUSTRATO

Las oxigenasas están relacionadas con la síntesis o degradación de muchos tipos diferentes de metabolitos. Catalizan la incorporación

de oxígeno en una molécula de sustrato en dos pasos: 1) el oxígeno se une a la enzima en el sitio activo y 2) el oxígeno unido se reduce o se transfiere al sustrato. Las oxigenasas se pueden dividir en dos subgrupos, dioxigenasas y monooxigenasas.

Las dioxigenasas incorporan ambos átomos de oxígeno molecular en el sustrato

La reacción básica catalizada por dioxigenasas se muestra a continuación:

$$A + O_2 \rightarrow AO_2$$

Los ejemplos incluyen las enzimas hepáticas, la **dioxigenasa homogenizada** (oxidasa) y la **3-hidroxiantranilato dioxigenasa** (oxidasa), que contienen hierro, y **L-triptófano dioxigenasa** (triptófano pirrolasa) (véase capítulo 29), que utiliza hemo.

Las monooxigenasas (oxidasas de función mixta, hidroxilasas) incorporan sólo un átomo de oxígeno molecular en el sustrato

El otro átomo de oxígeno se reduce a agua, siendo necesario un donador de electrones o cosustrato adicional (Z) para este propósito:

$$A — H + O_2 + ZH_2 \rightarrow A — OH + H_2O + Z$$

Los citocromos P450 son importantes en el metabolismo de los esteroides y en la desintoxicación de muchas drogas

Los **citocromos P450** son una superfamilia importante de hemo que contienen monooxigenasas, y más de 50 de tales enzimas se han hallado en el genoma humano. Se encuentran principalmente en el retículo endoplásmico en el hígado y el intestino, pero también en las mitocondrias de algunos tejidos. Los citocromos participan en una cadena de transporte de electrones, en la que tanto NADH como NADPH pueden donar equivalentes reductores. Los electrones se pasan al citocromo P450 en dos tipos de reacción que involucran FAD o FMN. Los sistemas de clase I consisten en una enzima reductasa que contiene FAD, una proteína de azufre de hierro (Fe_2S_2) y la proteína hemo P450, mientras que los sistemas de clase II contienen reductasa de citocromo P450, que pasa electrones de $FADH_2$ a FMN (**figura 12-5**). Los sistemas de clases I y II están bien caracterizados, pero en los últimos años se han identificado otros citocromos P450, que no encajan en ninguna categoría. En la fase final, el oxígeno acepta los electrones del citocromo P450 y se reduce, con un átomo incorporado en H_2O y el otro en el sustrato, lo que generalmente resulta en su hidroxilación. Esta serie de reacciones enzimáticas, conocida como **ciclo de hidroxilasa**, se ilustra en la **figura 12-6**. En el retículo endoplásmico del hígado, los citocromos P450 se encuentran junto con otra proteína que contiene hemo, el **citocromo b_5** (figura 12-5) y juntos tienen un papel principal en el metabolismo y la desintoxicación del fármaco. El citocromo b_5 también desempeña un papel importante como ácido graso desaturasa. Juntos, los citocromos P450 y b_5 son responsables de alrededor de 75% de la modificación y degradación de los medicamentos que se produce en el cuerpo. La velocidad de desintoxicación de muchas drogas medicinales por los citocromos P450 determina la duración de su acción. El benzopreno, la aminopirina, la anilina, la morfina y la benzfetamina son hidroxilados, lo que aumenta su solubilidad y ayuda a su excreción. Muchos medicamentos, como el fenobarbital, tienen la capacidad de inducir la síntesis de los citocromos P450.

Los sistemas mitocondriales del citocromo P450 se encuentran en tejidos esteroidogénicos, como corteza suprarrenal, testículo, ovario y placenta, y están relacionados con la biosíntesis de hormonas esteroides del colesterol (hidroxilación en C_{22} y C_{20} en la esci-

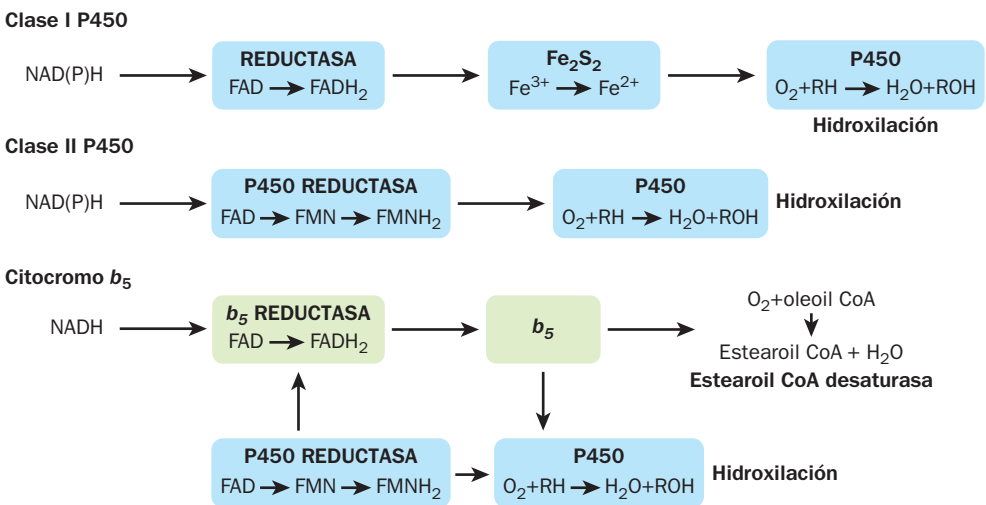


FIGURA 12-5 Citocromos P450 y b_5 en el retículo endoplásmico. La mayoría de los citocromos P450 son de clase I o clase II. Además del citocromo P450, los sistemas de clase I incluyen una pequeña reductasa que contiene FAD y una proteína de azufre de hierro, y la clase II contiene reductasa de citocromo P450, que incorpora FAD y FMN. Los citocromos P450 catalizan muchas reacciones de hidroxilación de esteroides y pasos de desintoxicación de fármacos. El citocromo b_5 actúa junto con la citocromo b_5 reductasa, que contiene FAD, en la reacción de la acil-CoA desaturasa grasa (p. ej., estearoil-CoA desaturasa) y también funciona junto con los citocromos P450 en la desintoxicación de fármacos. Puede aceptar electrones de la reductasa del citocromo P450, a través de la citocromo b_5 reductasa, y donarlos al citocromo P450.

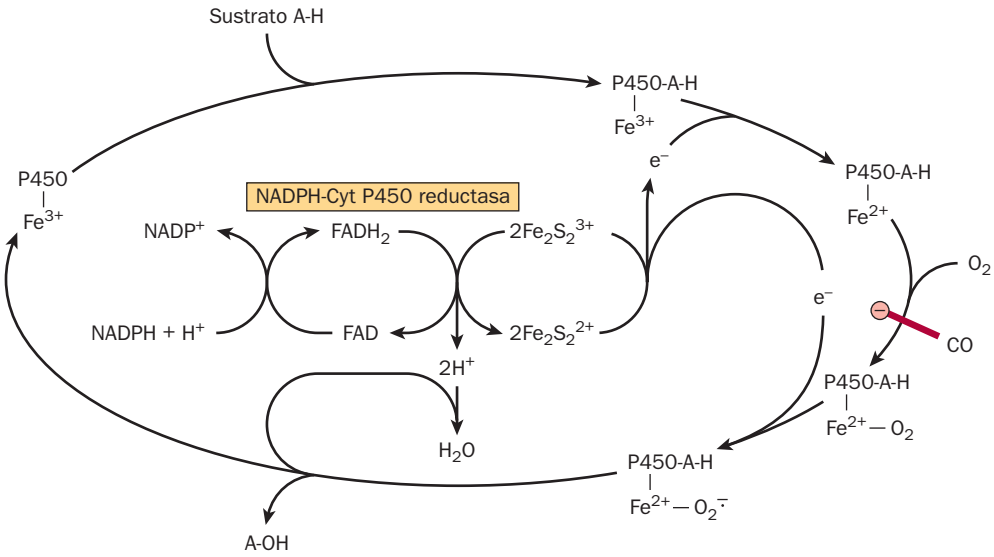


FIGURA 12-6 Ciclo de hidroxilasa de citocromo P450. El sistema que se muestra es típico de las esteroides hidroxilasas de la corteza suprarrenal. La hidroxilasa citocromo P450 microsomal hepática no requiere de la proteína hierro-azufre Fe_2S_2. El monóxido de carbono (CO, *carbon monoxid*) inhibe el paso indicado.

sión de la cadena lateral y en las posiciones 11β y 18). Además, los sistemas renales que catalizan las 1α y 24-hidroxilaciones de 25-hidroxicolecalciferol en el metabolismo de la vitamina D —y colesterol 7α-hidroxilasa y esterol 27-hidroxilasa implicados en la biosíntesis de ácidos biliares a partir del colesterol en el hígado (véanse capítulos 26, 41)— son enzimas P450.

LA SUPERÓXIDO DISMUTASA PROTEGE A LOS ORGANISMOS AERÓBICOS CONTRA LA TOXICIDAD DEL OXÍGENO

La transferencia de un solo electrón a O_2 genera el **radical anión superóxido** potencialmente dañino (O_2^-), que da lugar a reacciones en cadena de radicales libres (véase capítulo 21), amplificando sus efectos destructivos. La facilidad con la que el superóxido se puede formar a partir del oxígeno en los tejidos y la existencia de **superóxido dismutasa** (**SOD,** ***superoxide dismutase***), la enzima responsable de su eliminación en todos los organismos aeróbicos (aunque no en anaerobios obligados), indica que la toxicidad potencial del oxígeno se debe a su conversión a superóxido.

El superóxido se forma cuando las flavinas reducidas (presentes, p. ej., en la xantina oxidasa) se reoxidan de forma univalente mediante oxígeno molecular:

$$\text{Enz} — \text{Flavina} — H_2 + O_2 \rightarrow \text{Enz} — \text{Flavina} — H + O_2^- + H^+$$

El superóxido puede reducir el citocromo *c* oxidado

$$O_2^- + \text{Cyt}c(Fe^{+3}) \rightarrow O_2 + \text{Cyt}c(Fe^{+2})$$

o ser eliminado por superóxido dismutasa, que cataliza la conversión de oxígeno y peróxido de hidrógeno.

En esta reacción, el superóxido actúa como oxidante y reductor. Por tanto, la superóxido dismutasa protege a los organismos aeróbicos de los posibles efectos nocivos del superóxido. La enzima se produce en todos los tejidos aeróbicos principales en la mitocondria y el citosol. Aunque la exposición de los animales a una atmósfera de oxígeno a 100% provoca un aumento adaptativo de la SOD, en particular en los pulmones, la exposición prolongada conduce al daño pulmonar y la muerte. Los antioxidantes, por ejemplo, el α-tocoferol (vitamina E), actúan como neutralizadores de radicales libres y reducen la toxicidad del oxígeno (véase capítulo 44).

RESUMEN

- En los sistemas biológicos, como en los sistemas químicos, la oxidación (pérdida de electrones) siempre va acompañada de la reducción de un aceptor de electrones.
- Las oxidorreductasas tienen una variedad de funciones en el metabolismo; oxidasas y deshidrogenasas desempeñan un papel importante en la respiración; las hidroperoxidasas protegen el cuerpo contra el daño por radicales libres; y las oxigenasas median la hidroxilación de fármacos y esteroides.
- Los tejidos están protegidos contra la toxicidad del oxígeno causada por el radical libre superóxido mediante la enzima específica superóxido dismutasa.

REFERENCIAS

Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 6th ed. Macmillan Higher Education; 2013.

Nicholls DG, Ferguson SJ. *Bioenergetics*. 4th ed. Academic Press; 2013.

CAPÍTULO 13

La cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir la estructura de doble membrana de las mitocondrias e indicar la ubicación de varias enzimas.
- Advertir que la energía de la oxidación de sustratos de combustible (grasas, carbohidratos, aminoácidos) se genera casi toda en las mitocondrias mediante un proceso denominado transporte de electrones, en el que los electrones pasan a través de una serie de complejos (la cadena respiratoria), hasta que finalmente reaccionan con oxígeno para formar agua.
- Describir los cuatro complejos de proteínas implicados en la transferencia de electrones a través de la cadena respiratoria y explicar las funciones de las flavoproteínas, las proteínas de hierro y azufre y la coenzima Q.
- Explicar cómo la coenzima Q acepta electrones de NADH a través del complejo I y de $FADH_2$ a través del complejo II.
- Indicar cómo se pasan los electrones de la coenzima Q reducida al citocromo *c* a través del complejo III en el ciclo Q.
- Explicar el proceso mediante el cual el citocromo *c* reducido se oxida y el oxígeno se reduce a agua a través del complejo IV.
- Describir cómo el transporte de electrones genera un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna, lo que lleva a la acumulación de una fuerza motriz de protones que genera ATP por el proceso de fosforilación oxidativa.
- Describir la estructura de la enzima ATP sintasa y explicar cómo funciona como un motor rotativo para producir ATP a partir de ADP y P_i.
- Explicar que la oxidación de los equivalentes reductores a través de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa están estrechamente relacionados en la mayoría de las circunstancias, de modo que no se puede proceder a menos que el otro esté funcionando.
- Indicar ejemplos de venenos comunes que bloquean la respiración o la fosforilación oxidativa e identificar su sitio de acción.
- Explicar, con ejemplos, cómo los desacopladores pueden actuar como venenos, al disociar la oxidación a través de la cadena respiratoria de la fosforilación oxidativa, pero también pueden tener un papel fisiológico en la generación de calor corporal.
- Explicar el papel de los transportadores de intercambio presentes en la membrana mitocondrial interna, al permitir el paso de los iones y los metabolitos, a la vez que se preserva el equilibrio electroquímico y osmótico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos aeróbicos pueden capturar una proporción mucho mayor de la energía libre disponible de los sustratos respiratorios, que los organismos anaeróbicos. La mayor parte de esto tiene lugar dentro de las **mitocondrias**, que se han denominado las "centrales energéticas" de la célula. La respiración se combina con la generación del intermediario de alta energía, ATP (véase capítulo 11), mediante la **fosforilación oxidativa**. Una cantidad de medicamentos (p. ej., el **amobarbital**) y venenos (p. ej., el **cianuro**, el **monóxido de carbono**) inhiben la fosforilación oxidativa, por lo general con consecuencias fatales. Se han informado varios defectos hereditarios de las mitocondrias que involucran componentes de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Los pacientes se presentan con **miopatía** y **encefalopatía**, y con frecuencia tienen **acidosis láctica**.

LAS ENZIMAS ESPECÍFICAS ESTÁN ASOCIADAS A COMPARTIMIENTOS SEPARADOS POR LAS MEMBRANAS MITOCONDRIALES

La **matriz** mitocondrial (el compartimiento interno) está rodeada por una **doble membrana**. La **membrana externa** es permeable a la mayoría de los metabolitos, y la **membrana interna** es selectivamente permeable (**figura 13-1**). La membrana externa se caracteriza por la presencia de diversas enzimas, incluidas la **acil-CoA sintetasa** (véase capítulo 22) y la **glicerol fosfato aciltransferasa** (véase capítulo 24). Otras enzimas, incluida la **adenilil cinasa** (véase capítulo 11) y la **creatina cinasa** (véase capítulo 51) se encuentran en el **espacio intermembrana**. El fosfolípido **cardiolipina** se concentra en la membrana interna junto con las enzimas de la **cadena respiratoria**, la **ATP sintasa** y varios **transportadores de membrana**.

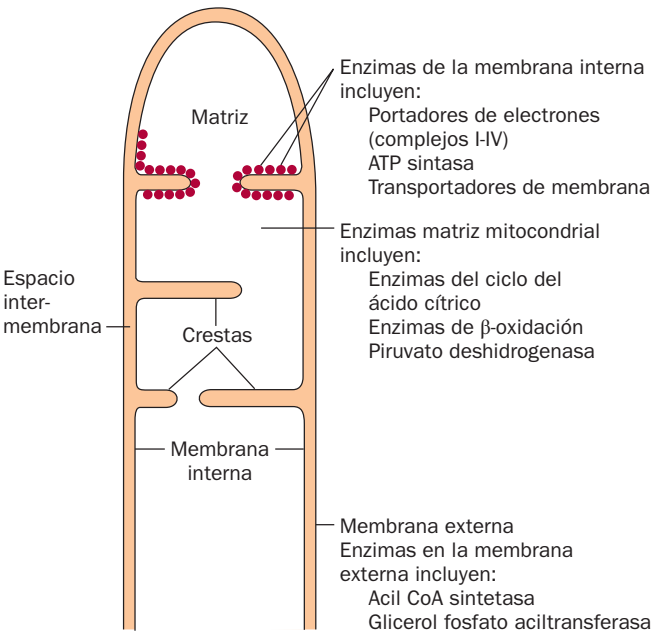


FIGURA 13-1 Estructura de las membranas mitocondriales. Tenga en cuenta que la membrana interna contiene muchos pliegues o crestas.

LA CADENA RESPIRATORIA OXIDA LOS EQUIVALENTES REDUCTORES Y ACTÚA COMO UNA BOMBA DE PROTÓN

La mayoría de la energía liberada durante la oxidación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos está disponible dentro de las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o electrones) (**figura 13-2**). Las enzimas del ciclo del ácido cítrico y la β-oxidación (véanse capítulos 22 y 16), los **complejos de la cadena respiratoria** y la maquinaria para la **fosforilación oxidativa** se encuentran, todos, en las mitocondrias. La cadena respiratoria recolecta y transporta equivalentes reductores, dirigiéndolos a su reacción final con el oxígeno para formar agua, y la fosforilación oxidativa es el proceso por el cual la energía libre liberada queda atrapada como **fosfato de alta energía**.

Los componentes de la cadena respiratoria se encuentran en cuatro grandes complejos proteicos incrustados en la membrana mitocondrial interna

Los electrones fluyen por medio de la cadena respiratoria a través de un rango redox de 1.1 V desde $NAD^+/NADH$ hasta $O_2/2H_2O$ (véase cuadro 12-1), pasando por tres grandes complejos proteicos: **NADH-Q oxidorreductasa (complejo I)**, desde donde se transfieren electrones NADH a la **coenzima Q (Q)** (también llamada **ubiquinona**); **Q-citocromo *c* óxidorreductasa (complejo III)**, que pasa los electrones al **citocromo *c*; y citocromo *c* oxidasa (complejo IV)**, que completa la cadena, pasando los electrones a O_2 y haciendo que se reduzcan a H_2O (**figura 13-3**). Algunos sustratos con potenciales redox más positivos que $NAD^+/NADH$ (p. ej., el succinato) pasan electrones a Q a través de un cuarto complejo, el **succinato-Q reductasa (complejo II)**, en lugar del complejo I. Los cuatro complejos están implantados en la membrana mitocondrial interna, pero Q y el citocromo *c* son móviles. Q se difunde rápidamente dentro de la membrana, mientras que el citocromo *c* es una proteína soluble.

Las flavoproteínas y las proteínas hierro-azufre (Fe-S) son componentes de los complejos de la cadena respiratoria

Las **flavoproteínas** (véase capítulo 12) son componentes importantes de los complejos I y II. El flavín nucleótido oxidado (flavín mononucleótido [FMN, *flavin mononucleotide*] o flavín adenín dinucleótido [FAD, *flavin adenine dinucleotide*]) se puede reducir en reacciones que involucran la transferencia de dos electrones (para formar $FMNH_2$ o $FADH_2$), pero también pueden aceptar un electrón para formar la semiquinona (véase figura 12-2). Las **proteínas de hierro-azufre (proteínas de hierro no hemo, Fe-S)** se encuentran en los complejos I, II y III. Éstos pueden contener uno, dos o cuatro átomos de Fe unidos a átomos de azufre inorgánicos y/o, a través de grupos SH de cisteína, a la proteína (**figura 13-4**). La Fe-S

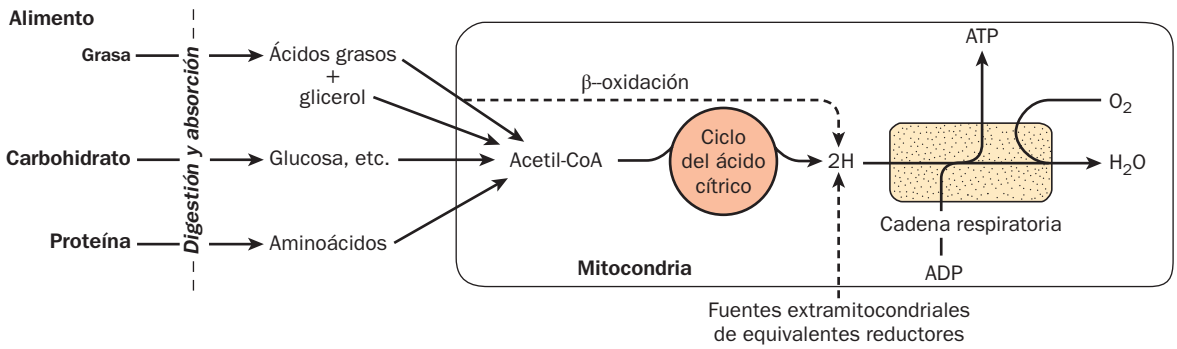


FIGURA 13-2 Papel de la cadena respiratoria de las mitocondrias en la conversión de energía alimentaria en ATP. La oxidación de los principales alimentos lleva a la generación de equivalentes reductores (2H) que se recolectan por la cadena respiratoria para la oxidación y la generación acoplada de ATP.

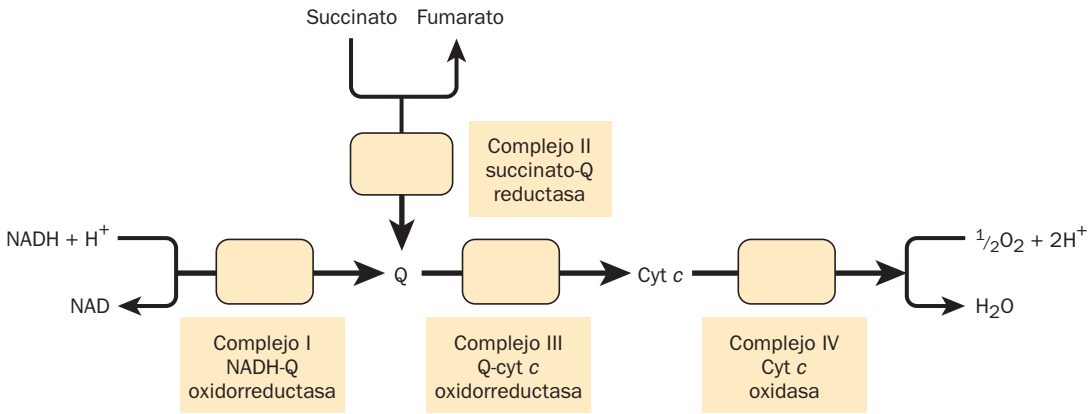


FIGURA 13-3 Descripción general del flujo de electrones a través de la cadena respiratoria. (Cyt [*cytochrome*], citocromo; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

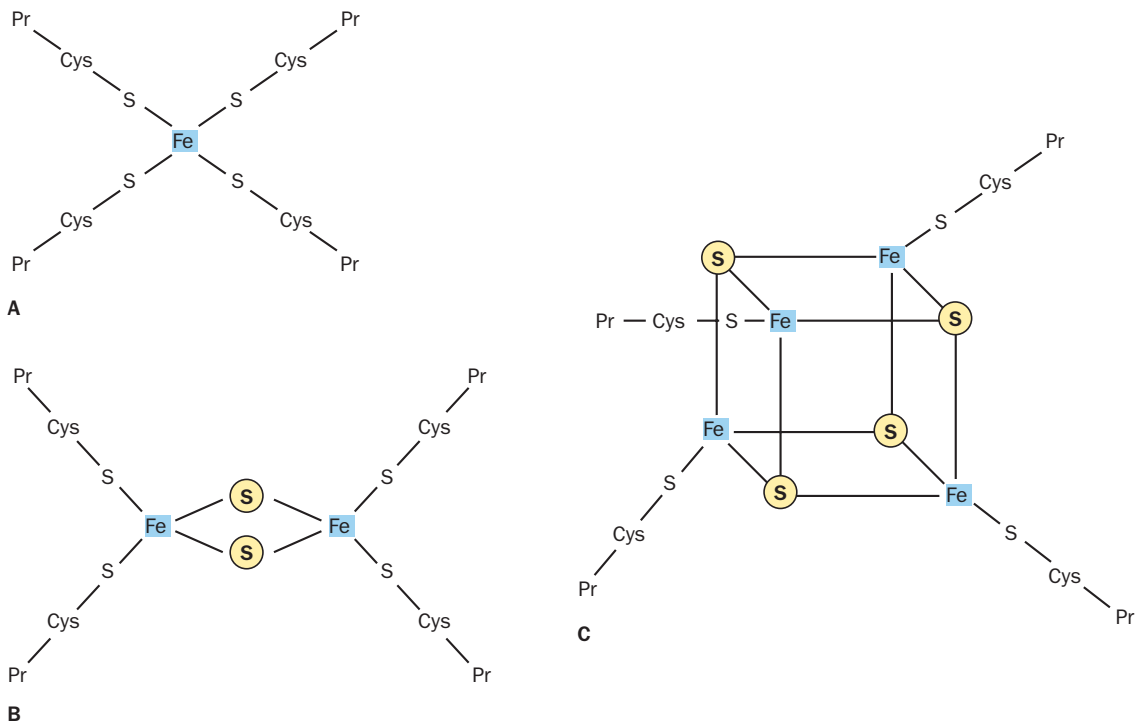


FIGURA 13-4 Proteínas de hierro y azufre (Fe-S). (**A**) La Fe-S más simple con un Fe unido por cuatro cisteínas. (**B**) Centro 2Fe-2S. (**C**) Centro 4Fe-4S. (Cys, cisteína; Pr, apoproteína; Ⓢ, azufre inorgánico.)

participa en reacciones de transferencia de electrones individuales, en las que un átomo de Fe se somete a oxidorreducción entre Fe^{2+} y Fe^{3+}.

Q acepta electrones a través de los complejos I y II

La NADH-Q oxidorreductasa o complejo I es una proteína multisubunidad larga, en forma de L, que cataliza la transferencia de electrones de NADH a Q, y durante el proceso cuatro H^+ se transfieren, a través de la membrana, al espacio intermembrana:

$$NADH + Q + 5H^+_{matriz} \rightarrow NAD + QH_2 + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

En un inicio, los electrones se transfieren de NADH a FMN, luego a una serie de centros Fe-S y, finalmente, a Q (**figura 13-5**). En el complejo II (succinato-Q-reductasa), $FADH_2$ se forma durante la conversión de succinato en fumarato, en el ciclo del ácido cítrico (véase figura 16-3) y los electrones pasan a Q a través de varios centros Fe-S (figura 13-5). El glicerol-3-fosfato (generado en la descomposición de los triacilgliceroles o de la glucólisis, véase figura 17-2) y el acil-CoA también transfieren electrones a Q, a través de diferentes vías que implican flavoproteínas (figura 13-5).

Las parejas de electrones del ciclo Q transfieren el transporte de protones en el complejo III

Los electrones pasan de QH_2 al citocromo *c*, a través del complejo III (Q-citocromo *c* oxidorreductasa):

$$QH_2 + Cyt\,c_{\ oxidado} + 2H^+_{matriz} \rightarrow$$
$$Q + 2Cyt\,c_{reducido} + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

Se cree que el proceso involucra a los **citocromos** c_1, b_L y b_H y una **Fe-S Rieske** (una Fe-S inusual, en la que uno de los átomos de Fe está unido a dos residuos de histidina, en lugar de a dos residuos de cisteína) (figura 13-5) y se conoce como el **ciclo Q** (**figura 13-6**). Q puede existir en tres formas: la quinona oxidada, el quinol reducido o la semiquinona (figura 13-6). La semiquinona se forma transitoriamente durante el ciclo, una vuelta de la cual se obtiene como resultado la oxidación de $2QH_2$ a Q, liberando $4H^+$ en el espacio intermembrana, y la reducción de una Q a QH_2, causando que $2H^+$ se tome de la matriz (figura 13-6). Tenga en cuenta que mientras Q porta dos electrones, los citocromos llevan sólo uno, por lo que la oxidación de un QH_2 se acopla a la reducción de dos moléculas de citocromo c a través del ciclo Q.

El oxígeno molecular se reduce a agua a través del complejo IV

El citocromo *c* reducido es oxidado por el complejo IV (citocromo *c* oxidasa), con la reducción concomitante de O_2 en dos moléculas de agua:

$$4Cyt\,c_{reducido} + O_2 + 8H^+_{matriz} \rightarrow$$
$$4Cyt\,c_{oxidado} + 2H_2O + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

Cuatro electrones se transfieren del citocromo *c* al O_2 a través de **dos grupos hemo, *a*, a_3 y Cu** (figura 13-5). Los electrones se pasan, inicialmente, a un centro Cu (Cu_A), que contiene átomos de 2Cu unidos a dos grupos de proteína cisteína-SH (parecido a una Fe-S), luego, en secuencia, a hemo *a*, hemo a_3, un segundo centro Cu, Cu_B, el cual está relacionado con hemo a_3, y finalmente a O_2. Ocho H^+ se eliminan de la matriz, de ellos, cuatro se utilizan para formar dos moléculas de agua y cuatro se bombean en el espacio inter-

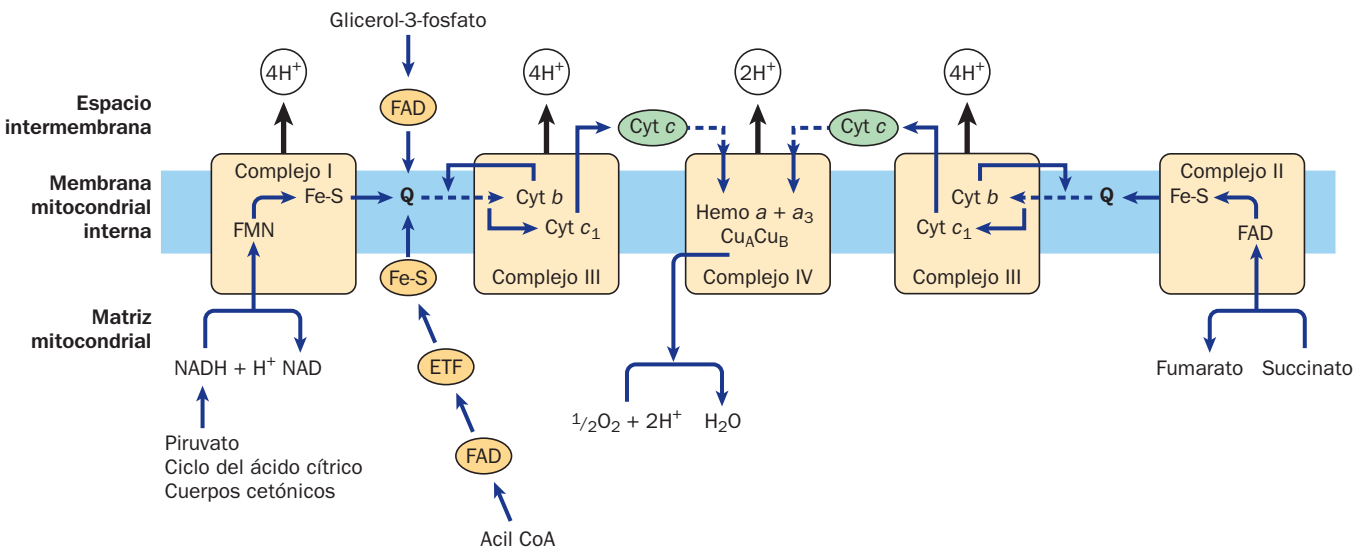
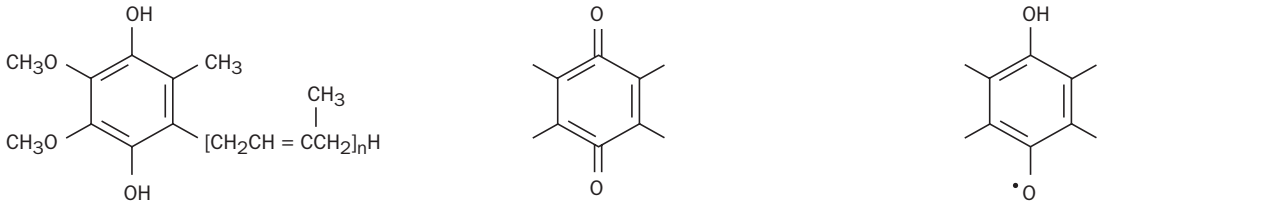


FIGURA 13-5 Flujo de electrones a través de los complejos de la cadena respiratoria, que muestra los puntos de entrada para equivalentes reductores desde sustratos importantes. Q y cyt ***c*** son componentes móviles del sistema, como se indica por las flechas de puntos. El flujo a través del complejo III (el ciclo Q) se muestra, con más detalle, en la figura 13-6. (Cyt, citocromo; ETF [*electron transferring flavoprotein*], flavoproteína de transferencia de electrones; Fe-S [***iron-sulfur protein***], proteína de hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona.)



QH_2: forma reducida (QH_2) (quinol) **Q:** forma completamente oxidada (quinona) **$^{\bullet}Q^{-}$:** forma de la semiquinona (radical libre)

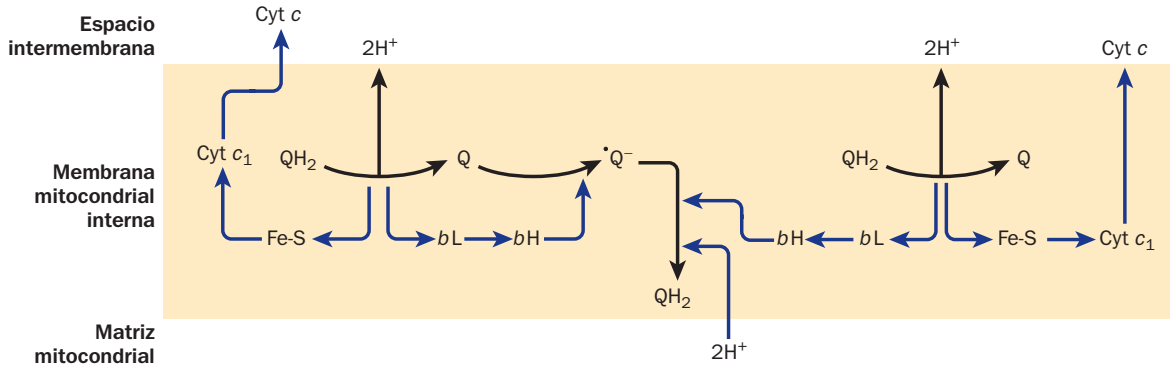


FIGURA 13-6 **El ciclo Q.** Durante la oxidación de QH_2 a Q, se dona un electrón a cyt ***c*** a través de una Fe-S Rieske y cyt $\mathbf{c_1}$, y el segundo a un Q, para formar la semiquinona a través de cyt b_L y cyt b_H, con $2H^+$ siendo liberado en el espacio intermembrana. Luego se produce un proceso similar con un segundo QH_2, pero en este caso, el segundo electrón se dona a la semiquinona, reduciéndola a QH_2, y $2H^+$ se toman de la matriz. (Cyt, citocromo; Fe-S, proteína de hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona).

membrana. Por tanto, por cada par de electrones que pasan por la cadena desde NADH o $FADH_2$, el complejo IV bombea $2H^+$ a través de la membrana. El O_2 permanece unido con fuerza al complejo IV, hasta que se reduce por completo, y esto minimiza la liberación de intermediarios dañinos en potencia, como aniones superóxido o peróxido, que se forman cuando el O_2 acepta uno o dos electrones, respectivamente (véase capítulo 12).

EL TRANSPORTE DE ELECTRONES A TRAVÉS DE LA CADENA RESPIRATORIA CREA UN GRADIENTE DE PROTÓN QUE IMPULSA LA SÍNTESIS DEL ATP

El flujo de electrones a través de la cadena respiratoria genera ATP por el **proceso de fosforilación oxidativa**. La **teoría quimiosmótica**, propuesta por Peter Mitchell en 1961, postula que los dos procesos están acoplados por un gradiente de protones, a través de la membrana mitocondrial interna, para que la **fuerza motriz del protón** causada por la diferencia de potencial electroquímico (negativa en el lado de la matriz) impulse el mecanismo de síntesis de ATP. Como hemos visto, los complejos I, III y IV actúan como **bombas de protones**, moviendo H^+ desde la matriz mitocondrial hasta el espacio intermembrana. Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a los iones en general, y particularmente a los protones, éstos se acumulan en el espacio intermembrana, creando la fuerza motriz del protón predicha por la teoría quimiosmótica.

Funciones de la ATP sintasa ubicada en la membrana como un motor rotativo para formar ATP

La fuerza motriz del protón impulsa una **ATP sintasa** ubicada en la membrana, que forma ATP en presencia de P_i + ADP. La ATP sintasa está implantada en la membrana interna, junto con los complejos de la cadena respiratoria (**figura 13-7**). Varias subunidades de la proteína forman una forma esférica dispuesta alrededor de un eje conocido como F_1, que se proyecta hacia la matriz y contiene el mecanismo de fosforilación (**figura 13-8**). El F_1 está unido a un complejo de proteínas de membrana conocido como F_0, que también consta de varias subunidades de proteínas. El F_0 abarca la membrana y forma un canal de protones. A medida que los protones fluyen a través de F_0 impulsados por el gradiente de protones a través de la membrana, este rota, impulsando la producción de ATP en el complejo F_1 (figuras 13-7 y 13-8). Se cree que esto ocurre por un **mecanismo de cambio de enlace,** en el que la conformación de las subunidades β en F_1 cambia a medida que el eje gira de uno que se une fuertemente a ATP, a uno que libera ATP y se une a ADP y P_i, para que pueda formarse el próximo ATP. Como se indicó anteriormente, para cada NADH oxidado, los complejos I y III translocan cuatro protones cada uno y el complejo IV transloca dos.

LA CADENA RESPIRATORIA PROVEE LA MAYORÍA DE LA ENERGÍA CAPTURADA DURANTE EL CATABOLISMO

El ADP captura, en forma de fosfato de alta energía, una proporción significativa de la energía liberada por los procesos catabóli-

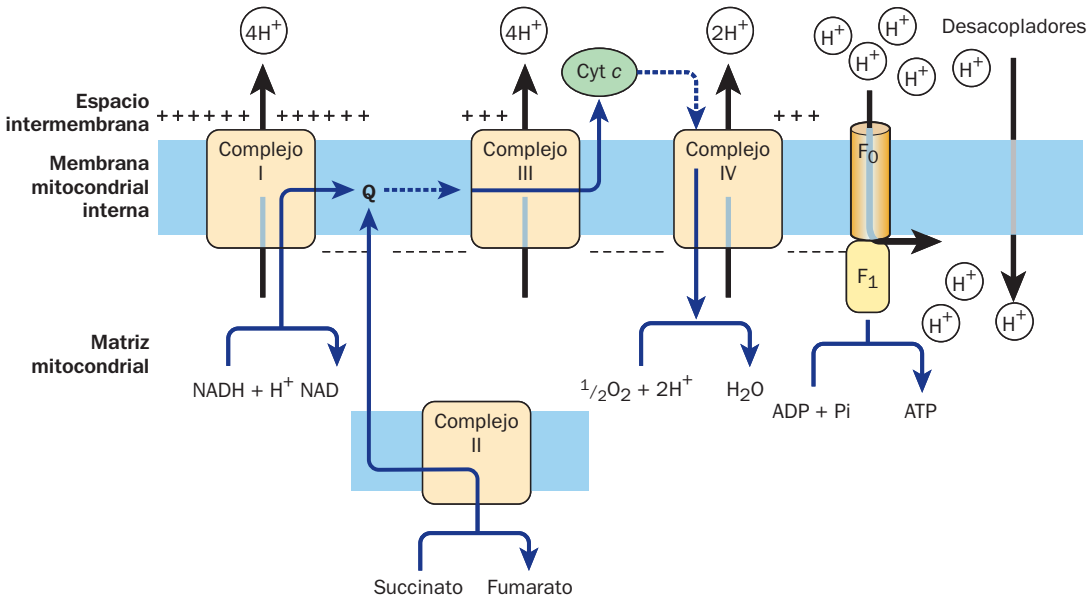


FIGURA 13-7 **La teoría quimiosmótica de la fosforilación oxidativa.** Los complejos I, III y IV actúan como bombas de protones, creando un gradiente de protones a través de la membrana, que es negativo en el lado de la matriz. La fuerza motriz del protón generada impulsa la síntesis de ATP, cuando los protones vuelven a la matriz a través de la enzima ATP sintasa (figura 13-8). Los desacopladores aumentan la permeabilidad de la membrana a iones, colapsan el gradiente de protones al permitir que el H^+ pase a través sin pasar por la ATP sintasa, y así desacoplan el flujo de electrones mediante los complejos respiratorios de la síntesis de ATP. (Cyt, citocromo; Q, coenzima Q o ubiquinona.)

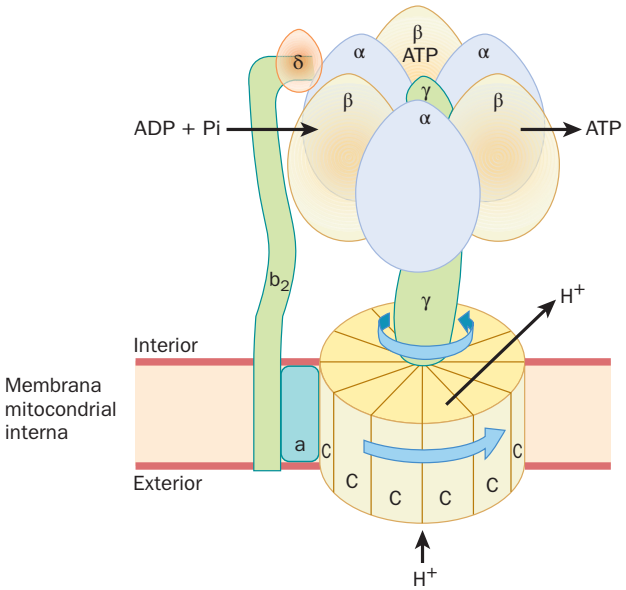


FIGURA 13-8 **Mecanismo de producción de ATP por ATP sintasa.** El complejo enzimático consiste en un subcomplejo F_0, que es un disco de subunidades de proteína "C". Se adjunta una subunidad γ en forma de un "eje encorvado". Los protones que pasan a través del disco de las unidades "C" provocan esto y que gire la subunidad γ adjunta. La subunidad γ se ajusta dentro del subcomplejo F_1 de tres subunidades α y tres β, que están fijadas a la membrana y no giran. Las subunidades β toman de forma secuencial ADP y P_i para formar ATP, que se expulsa cuando la subunidad γ en rotación aprieta cada subunidad β por turno y cambia su conformación. Por tanto, se generan tres moléculas de ATP por revolución. Para mayor claridad, no se muestran todas las subunidades que se han identificado; por ejemplo, el "eje" también contiene una subunidad ε.

cos. El ATP resultante se ha denominado "**prevalencia**" **energética** de la célula, porque transfiere esta energía libre para impulsar los procesos que requieren energía (consúltese figura 11-5). Existe una captura directa neta de dos grupos de fosfato de alta energía en las reacciones glucolíticas (véase cuadro 17-1). Otros dos fosfatos de alta energía por mol de glucosa se capturan en el ciclo del ácido cítrico durante la conversión de succinil-CoA en succinato (véase capítulo 16). Todas estas fosforilaciones ocurren a **nivel de sustrato**. Para cada mol de sustrato oxidado a través de los complejos I, III y IV en la cadena respiratoria (es decir, a través de NADH), se forman 2.5 moles de ATP por cada 0.5 moles de O_2 consumidos, es decir, la relación P:O = 2.5 (figura 13-7). Por otro lado, cuando 1 mol de sustrato (p. ej., el succinato o 3-fosfoglicerato) se oxida a través de los complejos II, III y IV, sólo se forman 1.5 mol de ATP, es decir, P:O = 1.5. Estas reacciones se conocen como **fosforilación oxidativa a nivel de la cadena respiratoria**. Teniendo en cuenta estos valores, se puede estimar que casi 90% de los fosfatos de alta energía que se producen a partir de la oxidación completa de 1 mol de glucosa se obtienen a través de la fosforilación oxidativa acoplada a la cadena respiratoria (véase cuadro 17-1).

El control respiratorio asegura un suministro constante de ATP

La tasa de respiración de las mitocondrias puede controlarse mediante la disponibilidad de ADP. Esto se debe a que la oxidación y la fosforilación están **estrechamente relacionadas**; es decir, la oxidación no puede continuar a través de la cadena respiratoria sin la fosforilación concomitante de ADP. El **cuadro 13-1** muestra las cinco condiciones que controlan la tasa de respiración en las mitocondrias. La mayoría de las células en estado de reposo están en el **estado 4**, y la respiración está controlada por la disponibilidad de ADP. Cuando se realiza alguna labor, ATP se convierte en ADP, lo que permite que se produzca más respiración, lo que a su vez repone la reserva

CUADRO 13-1 Estados del control respiratorio

Condiciones que limitan la velocidad de respiración	
Estado 1	Disponibilidad de ADP y sustrato
Estado 2	Disponibilidad sólo de sustrato
Estado 3	La capacidad de la cadena respiratoria en sí, cuando todos los sustratos y componentes están presentes en cantidades saturadas
Estado 4	Disponibilidad sólo de ADP
Estado 5	Disponibilidad de oxígeno solamente

de ATP. Bajo ciertas condiciones, la concentración de fosfato inorgánico también puede afectar la tasa de funcionamiento de la cadena respiratoria. A medida que la respiración aumenta (como en el ejercicio), la célula se acerca al **estado 3** o **5**, cuando la capacidad de la cadena respiratoria se satura o PO_2 disminuye por debajo de K_m para hemo a_3. También existe la posibilidad de que el transportador de ADP/ATP, que facilita la entrada de ADP citosólico en ATP y fuera de la mitocondria, se convierta en una limitante de la velocidad.

Por tanto, la manera en que los procesos oxidativos biológicos permiten que la energía libre resultante de la oxidación de los alimentos esté disponible y sea capturada, es paulatina, eficiente y controlada, en lugar de explosiva, ineficiente e incontrolada, como en muchos procesos no biológicos. La energía libre restante, que no se captura como fosfato de alta energía, se libera en forma de **calor**. Esto no debe considerarse "desperdiciado", ya que asegura que el sistema respiratorio como un todo sea suficientemente exergónico para ser eliminado del equilibrio, lo que permite un flujo continuo unidireccional y la provisión constante de ATP. También contribuye al mantenimiento de la temperatura corporal.

MUCHOS VENENOS INHIBEN LA CADENA RESPIRATORIA

Se ha obtenido mucha información sobre la cadena respiratoria mediante el uso de inhibidores, y, a la vez, esto ha proporcionado conocimiento sobre el mecanismo de acción de varios venenos (**figura 13-9**). Se pueden clasificar como inhibidores de la cadena respiratoria, inhibidores de la fosforilación oxidativa o desacopladores de la fosforilación oxidativa.

Los **barbitúricos**, como el amobarbital, inhiben el transporte de electrones a través del complejo I, bloqueando la transferencia de Fe-S a Q. En dosis suficientes, son fatales. La **antimicina A** y el **dimercaprol** inhiben la cadena respiratoria en el complejo III. Los venenos clásicos **H_2S**, el **monóxido de carbono** y el **cianuro** inhiben el complejo IV y, por consiguiente, pueden detener por completo la respiración. El **malonato** es un inhibidor competitivo del complejo II.

La **atractilosida** inhibe la fosforilación oxidativa mediante la inhibición del transportador de ADP y de ATP fuera de la mitocondria (**figura 13-10**). El antibiótico **oligomicina** bloquea completamente la oxidación y la fosforilación, al bloquear el flujo de protones a través de la ATP sintasa (figura 13-9).

Los **desacopladores** disocian la oxidación en la cadena respiratoria de la fosforilación (figura 13-7). Estos compuestos son tóxicos, por lo que causan que la respiración se vuelva incontrolada, puesto que la velocidad ya no está limitada por la concentración de ADP o P_i. El desacoplador que se ha usado con mayor frecuencia es **2,4-dinitrofenol**, pero otros compuestos actúan de manera similar. La **termogenina** (o **la proteína desacopladora**) es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo marrón y que funciona para generar calor corporal, en particular en el recién nacido y durante la hibernación en los animales (véase capítulo 25).

LA TEORÍA QUIMIOSMÓTICA EXPLICA EL CONTROL RESPIRATORIO Y LA ACCIÓN DE LOS DESACOPLADORES

La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana, una vez establecida como resultado de la translocación de protones, inhibe el transporte adicional de equivalentes reductores por medio de la cadena respiratoria, a menos que se descargue por retrotranslocación de protones a través de la membrana mediante ATP sintasa. Esto, a su vez, depende de la disponibilidad de ADP y P_i.

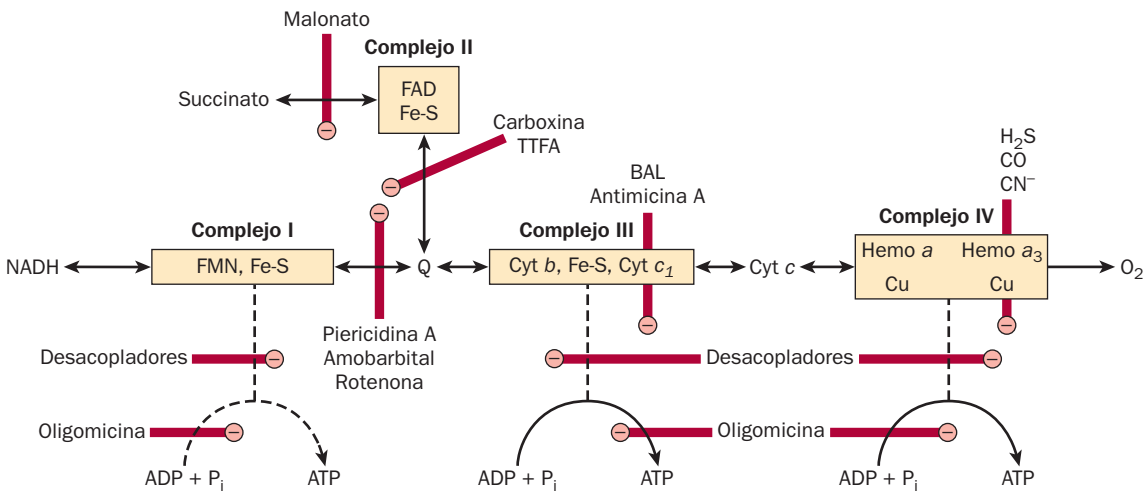


FIGURA 13-9 Sitios de inhibición (⊖) de la cadena respiratoria por fármacos específicos, productos químicos y antibióticos. (BAL, dimercaprol; TTFA, un agente quelante de Fe. Otras abreviaturas, como en la figura 13-5.)

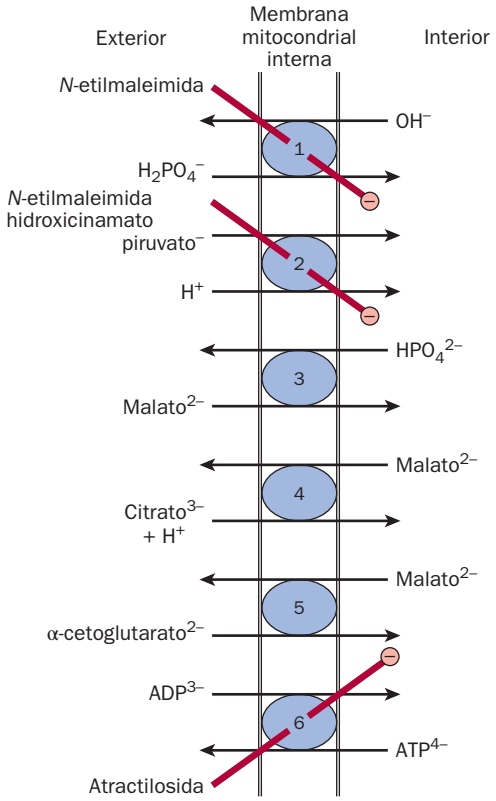


FIGURA 13-10 Sistemas transportadores en la membrana mitocondrial interna. ① Transportador de fosfato, ② simporte piruvato, ③ transportador de dicarboxilato, ④ transportador de tricarboxilato, ⑤ transportador de α-cetoglutarato, ⑥ transportador de nucleótido de adenina. *N*-etilmaleimida, hidroxicinamato y atractilósido inhiben (⊖) los sistemas indicados. También están presentes (pero no se muestran) los sistemas transportadores de glutamato/aspartato (figura 13-13), glutamina, ornitina, aminoácidos neutros y carnitina (véase figura 22-1).

Los desacopladores (p. ej., el dinitrofenol) son anfipáticos (véase capítulo 21) y aumentan la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna lipoide a los protones, reduciendo así el potencial electroquímico y poniendo en cortocircuito la ATP sintasa (figura 13-7). De esta forma, la oxidación puede continuar sin fosforilación.

LA PERMEABILIDAD SELECTIVA DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA NECESITA TRANSPORTADORES DE INTERCAMBIO

Los **sistemas de difusión de intercambio** que incluyen proteínas transportadoras que atraviesan la membrana están presentes en la membrana para el intercambio de aniones contra iones OH^- y cationes contra iones H^+. Dichos sistemas son necesarios para la captación y la producción de metabolitos ionizados, a la vez que se preserva el equilibrio eléctrico y osmótico. La membrana mitocondrial interna es libremente permeable a **moléculas pequeñas sin carga**, como el oxígeno, el agua, el CO_2, el NH_3 y los **ácidos monocarboxílicos**, como el 3-hidroxibutírico, el acetoacético y el acético, especialmente en su forma no disociada, más soluble en lípidos. Los **ácidos grasos de cadena larga** se transportan a las mitocondrias a través del sistema carnitina (véase figura 22-1), y también hay un portador especial para el **piruvato** que implica un simporte que utiliza el gradiente de H^+ desde el exterior al interior de la mitocondria (figura 13-10). Sin embargo, los aniones de **dicarboxilato** y **tricarboxilato** (p. ej., **malato**, **citrato)** y los **aminoácidos** requieren sistemas transportadores o transportadores específicos para facilitar su paso a través de la membrana.

El transporte de aniones di y tricarboxilato está estrechamente relacionado con el del fosfato inorgánico, que penetra fácilmente como el ion $H_2PO_4^-$ a cambio de OH^-. La captación neta de malato por el transportador de dicarboxilato requiere fosfato inorgánico para el intercambio en la dirección opuesta. La captación neta de citrato, isocitrato o *cis*-aconitato por el transportador de tricarboxilato requiere malato a cambio. El transporte de α-cetoglutarato también requiere un intercambio con malato. El transportador de nucleótidos de adenina permite el intercambio de ATP y ADP, pero no de AMP. Es vital para la salida de ATP de las mitocondrias a los sitios de utilización extramitocondrial y para el retorno de ADP para la producción de ATP dentro de la mitocondria (**figura 13-11**). Dado que en esta translocación se eliminan cuatro cargas negativas de la matriz por cada tres tomadas, el gradiente electroquímico a través de la membrana (la fuerza motriz del protón) favorece la exportación de ATP. El Na^+ se puede intercambiar por H^+, impulsado por el gradiente de protones. Se cree que la absorción activa de Ca^{2+} por mitocondrias ocurre con una transferencia de carga neta de 1 (uniporte de Ca^+), posiblemente a través de un *antiporte* de Ca^{2+}/H^+. La liberación de calcio de las mitocondrias se ve facilitada por el intercambio con Na^+.

Los ionóforos permiten que cationes específicos penetren las membranas

Los **ionóforos** son moléculas lipofílicas que complejizan cationes específicos y facilitan su transporte a través de membranas biológi-

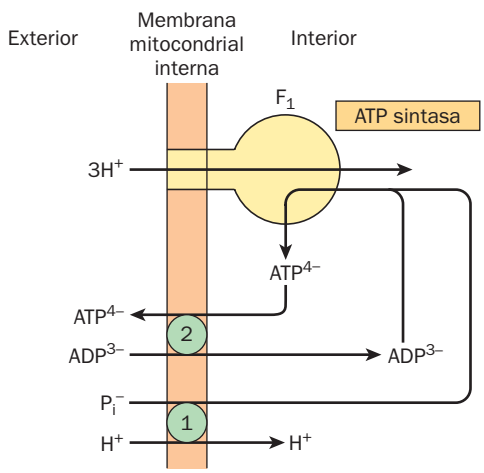


FIGURA 13-11 Combinación del transportador de fosfato ① con el transportador de nucleótido de adenina ② en la síntesis de ATP. El símbolo de H^+/P_i que se muestra es equivalente al ***antiporte*** de P_i/OH^- que se muestra en la figura 13-10.

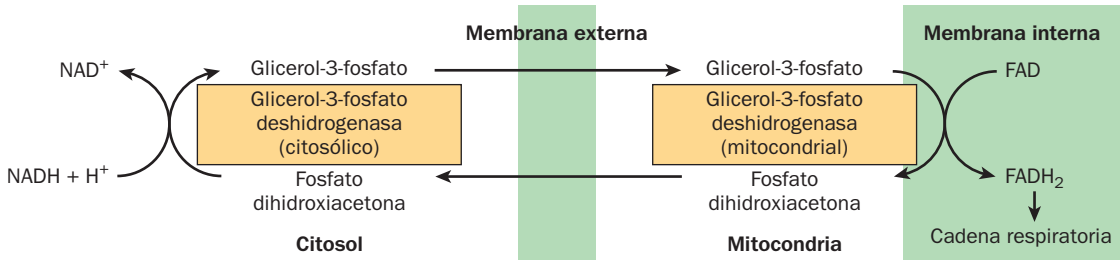


FIGURA 13-12 **Intercambio de glicerofosfato para la transferencia de equivalentes reductores del citosol a la mitocondria.**

cas, por ejemplo, la **valinomicina** (K^+). Los desacopladores clásicos como el dinitrofenol son, de hecho, ionóforos de protones.

Una transhidrogenasa translocadora de protones es una fuente de NADPH intramitocondrial

La **transhidrogenasa ligada a la energía**, una proteína en la membrana mitocondrial interna, acopla el paso de protones por el gradiente electroquímico desde el exterior al interior de la mitocondria con la transferencia de H desde NADH intramitocondrial hasta NADPH para enzimas intramitocondriales como la glutamato deshidrogenasa y las hidroxilasas involucradas en la síntesis de esteroides.

La oxidación de NADH extramitocondrial está mediada por el intercambio de sustratos

El NADH no puede penetrar en la membrana mitocondrial, pero se produce continuamente en el citosol por la 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, una enzima en la secuencia de glucólisis (véase figura 17-2). Sin embargo, bajo condiciones aeróbicas, el NADH extramitocondrial no se acumula y se presume que se oxida por la cadena respiratoria en las mitocondrias. La transferencia de equivalentes reductores a través de la membrana mitocondrial requiere **pares de sustratos**, unidos por deshidrogenasas adecuadas a cada lado de la membrana mitocondrial. El mecanismo de transferencia que usa el **intercambio de glicerofosfato** se muestra en la **figura 13-12**. Dado que la enzima mitocondrial está unida a la cadena respiratoria a través de una flavoproteína, en lugar de NAD, sólo se forma 1.5 mol, en vez de 2.5 mol, de ATP por átomo de oxígeno consumido. Aunque este intercambio está presente en algunos tejidos (p. ej., el cerebro, el músculo blanco), en otros (p. ej., el músculo cardiaco) es deficiente. Por tanto, se cree que el sistema de **intercambio de malato** (**figura 13-13**) tiene una utilidad más universal. La complejidad de este sistema se debe a la impermeabilidad de la membrana mitocondrial al oxaloacetato, que debe reaccionar con el glutamato para formar aspartato y α-cetoglutarato por transaminación, antes del transporte a través de la membrana mitocondrial y la reconstitución a oxaloacetato en el citosol.

El transporte de iones en las mitocondrias está relacionado con la energía

Las mitocondrias mantienen o acumulan cationes como K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} y P_i. Se supone que una bomba de protones primaria impulsa el intercambio de cationes.

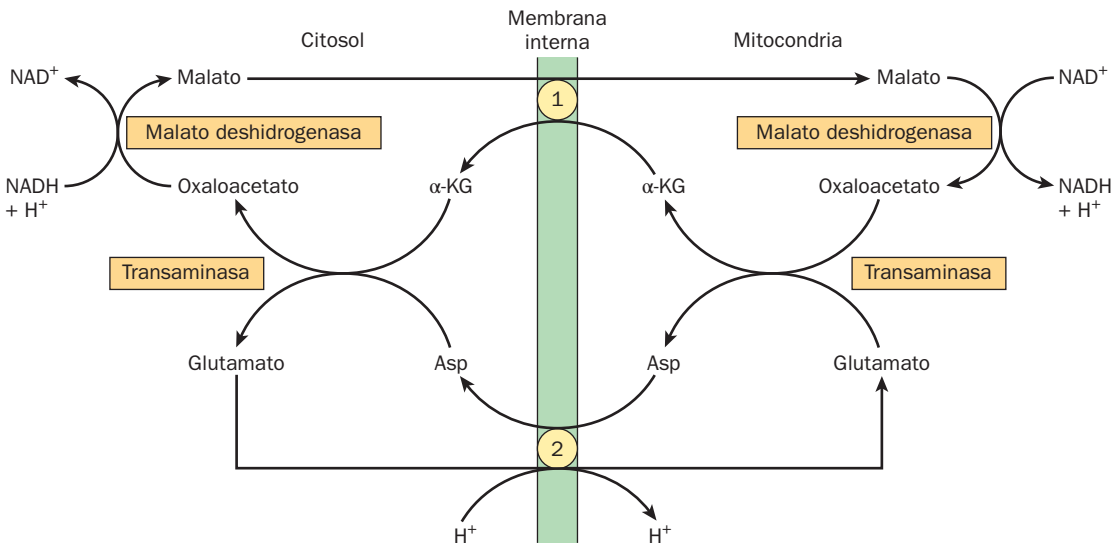


FIGURA 13-13 **Intercambio de malato para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hasta la mitocondria.** ① Transportador de α-cetoglutarato y ② el transportador de glutamato/aspartato (tenga en cuenta el simporte de protones con glutamato).

El intercambio de fosfato de creatina facilita el transporte de fosfato de alta energía desde las mitocondrias

El **intercambio de fosfato de creatina (figura 13-14)** aumenta las funciones del **fosfato de creatina** como un amortiguador de energía, actuando al igual que un sistema dinámico para la transferencia de fosfato de alta energía desde las mitocondrias en tejidos activos, como el corazón y el músculo esquelético. Se encuentra una isoenzima de **creatina cinasa** (CK_m) en el espacio intermembrana mitocondrial, que cataliza la transferencia de fosfato de alta energía a la creatina desde ATP que emerge del transportador de nucleótidos de adenina. A su vez, el fosfato de creatina se transporta al citosol, a través de los poros proteicos en la membrana mitocondrial externa, y está disponible para la generación de ATP extramitocondrial.

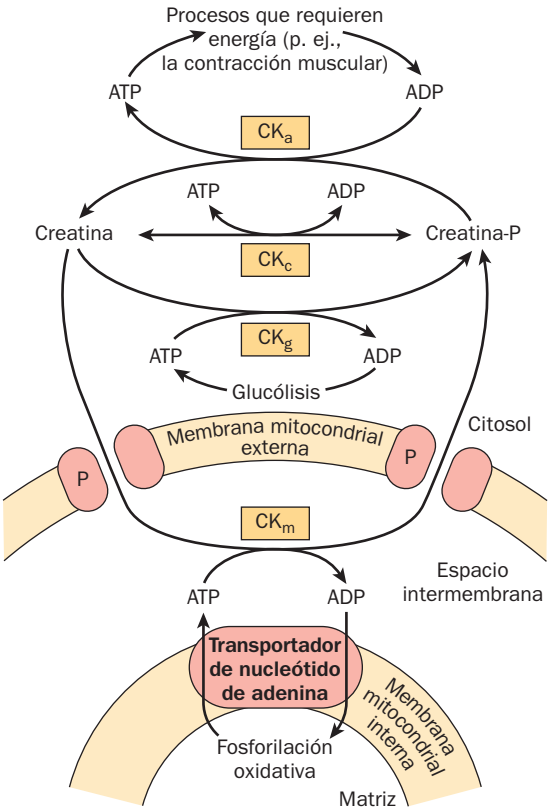


FIGURA 13-14 Intercambio de fosfato de creatina del corazón y el músculo esquelético. El intercambio permite el transporte rápido de fosfato de alta energía desde la matriz mitocondrial al citosol. (CK_a, creatina cinasa relacionada con grandes requerimientos de ATP, por ejemplo, la contracción muscular; CK_c, creatina cinasa para mantener el equilibrio entre la creatina y el fosfato de creatina y ATP/ADP; CK_g, creatina cinasa que acopla la glucólisis a la síntesis de creatina fosfato; CK_m, creatina cinasa mitocondrial que media en la producción de fosfato de creatina a partir del ATP formado en la fosforilación oxidativa; P, proteína de poro en la membrana mitocondrial externa.)

ASPECTOS CLÍNICOS

La condición conocida como **miopatía mitocondrial infantil fatal y la disfunción renal** implican una disminución intensa o ausencia de la mayoría de las oxidorreductasas de la cadena respiratoria. La encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y apoplejía, **MELAS** (*mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke*), es una afección hereditaria debida a la deficiencia de oxidorreductasa NADH-Q (complejo I) o citocromo oxidasa (complejo IV). Es causada por una mutación en el DNA mitocondrial y puede estar involucrada en la **enfermedad de Alzheimer** y la **diabetes mellitus**. Una cantidad de fármacos y venenos actúan inhibiendo la fosforilación oxidativa (véase antes).

RESUMEN

- Prácticamente toda la energía liberada de la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas está disponible en las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o e^-). Éstos se canalizan en la cadena respiratoria, donde se transmiten a través de un gradiente redox de portadores hasta su reacción final con oxígeno para formar agua.
- Los portadores redox se agrupan en cuatro complejos de cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna. Tres de los cuatro complejos pueden usar la energía que se libera en el gradiente redox para bombear protones al exterior de la membrana, creando un potencial electroquímico entre la matriz y el espacio de la membrana interna.
- La ATP sintasa atraviesa la membrana y actúa como un motor rotativo utilizando la energía potencial del gradiente de protones o la fuerza motriz del protón para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i. De esta forma, la oxidación se acopla estrechamente a la fosforilación para satisfacer las necesidades energéticas de la célula.
- Debido a que la membrana mitocondrial interna es impermeable a los protones y otros iones, los transportadores especiales de intercambio atraviesan la membrana para permitir el paso de iones como OH^-, ATP^{4-}, ADP^{3-} y metabolitos sin descargar el gradiente electroquímico a través de la membrana.
- Muchos venenos bien conocidos, como el cianuro, detienen la respiración por inhibición de la cadena respiratoria.

REFERENCIAS

Kocherginsky N. Acidic lipids, H(+)-ATPases, and mechanism of oxidative phosphorylation. Physico-chemical ideas 30 years after P. Mitchell's Nobel Prize award. *Prog Biophys Mol Biol* 2009;99:20.

Mitchell P. Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 1979;206:1148.

Nakamoto RK, Baylis Scanlon JA, Al-Shawi MK. The rotary mechanism of the ATP synthase. *Arch Biochem Biophys* 2008;476:43.

Preguntas del examen

Sección III. Bioenergética

1. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre el cambio de energía libre (ΔG) en una reacción bioquímica es CORRECTA?
   A. Si ΔG es negativo, la reacción procede espontáneamente con una pérdida de energía libre.
   B. En una reacción exergónica, ΔG es positivo.
   C. El cambio estándar de energía libre cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L y el pH es 7.0 se representa como ΔG^0.
   D. En una reacción endergónica, hay una pérdida de energía libre.
   E. Si una reacción es esencialmente irreversible, tiene un ΔG positivo alto.
2. Si el ΔG de una reacción es cero:
   A. La reacción prácticamente termina y es esencialmente irreversible.
   B. La reacción es endergónica.
   C. La reacción es exergónica.
   D. La reacción procede sólo si se puede obtener energía libre.
   E. El sistema está en equilibrio y no se produce cambio neto.
3. $\Delta G^{0\prime}$ se define como la carga de energía libre estándar cuando:
   A. Los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L.
   B. Los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L a pH 7.0.
   C. Los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mmol/L a pH 7.0.
   D. Los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 µmol/L.
   E. Los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L a pH 7.4.
4. ¿Cuál de las siguientes declaraciones sobre ATP es CORRECTA?
   A. Contiene tres enlaces de fosfato de alta energía.
   B. Es necesario en el cuerpo para conducir reacciones exergónicas.
   C. Se usa como un almacén de energía en el cuerpo.
   D. Funciona en el cuerpo como un complejo con Mg^{2+}.
   E. Es sintetizado por ATP sintasa en presencia de desacopladores como UCP-1 (termogenina).
5. ¿Cuál de las siguientes enzimas usa oxígeno molecular como aceptor de hidrógeno?
   A. Citocromo *c* oxidasa
   B. Isocitrato deshidrogenasa
   C. Homogeneizado dioxigenasa
   D. Catalasa
   E. Superóxido dismutasa
6. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los citocromos es INCORRECTA?
   A. Son hemoproteínas que toman parte en reacciones de oxidación-reducción.
   B. Contienen hierro que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante las reacciones en las que participan.
   C. Actúan como portadores de electrones en la cadena respiratoria de las mitocondrias.
   D. Tienen un papel importante en la hidroxilación de esteroides en el retículo endoplásmico.
   E. Todos son enzimas deshidrogenasas.
7. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los citocromos P450 es INCORRECTA?
   A. Pueden aceptar electrones de NADH o NADPH.
   B. Se encuentran sólo en el retículo endoplásmico.
   C. Son enzimas monooxigenasas.
   D. Desempeñan un papel importante en la desintoxicación de fármacos en el hígado.
   E. En algunas reacciones, trabajan en conjunto con el citocromo b_5.
8. Como una molécula de NADH se oxida a través de la cadena respiratoria:
   A. Se producen 1.5 moléculas de ATP en total.
   B. Se produce 1 molécula de ATP, cuando los electrones pasan a través del complejo IV.
   C. Se produce 1 molécula de ATP, cuando los electrones pasan a través del complejo II.
   D. Se produce 1 molécula de ATP, cuando los electrones pasan a través del complejo III.
   E. Se produce 0.5 de una molécula de ATP, cuando los electrones pasan a través del complejo I.
9. El número de moléculas de ATP producidas para cada molécula de $FADH_2$ oxidada a través de la cadena respiratoria es:
   A. 1
   B. 2.5
   C. 1.5
   D. 2
   E. 0.5
10. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa: la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico ligado a la oxidación de sustratos en las mitocondrias. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe la acción de la oligomicina?
    A. Descarga el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna.
    B. Descarga el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial externa.
    C. Inhibe directamente la cadena de transporte de electrones uniéndose a uno de los portadores de electrones en la membrana mitocondrial interna.
    D. Inhibe el transporte de ADP dentro, y ATP fuera, de la matriz mitocondrial.
    E. Inhibe el transporte de protones de vuelta a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa.
11. Varios compuestos inhiben la fosforilación oxidativa: la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico ligado a la oxidación de sustratos en las mitocondrias. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe la acción de un desacoplador?
    A. Descarga el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna.
    B. Descarga el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial externa.
    C. Inhibe directamente la cadena de transporte de electrones uniéndose a uno de los portadores de electrones en la membrana mitocondrial interna.
    D. Inhibe el transporte de ADP dentro, y ATP fuera, de la matriz mitocondrial.
    E. Inhibe el transporte de protones de vuelta a la matriz mitocondrial a través del tallo de la partícula primaria.
12. Una estudiante toma algunas tabletas que se le ofrecen en una discoteca, y sin preguntar qué son, las traga. Poco tiempo después comienza a hiperventilarse y se pone muy caliente. ¿Cuál es la acción más probable de las tabletas que ha tomado?
    A. Un inhibidor de la síntesis de ATP mitocondrial.
    B. Un inhibidor del transporte de electrones mitocondrial.
    C. Un inhibidor del transporte de ADP en las mitocondrias para ser fosforilado.

D. Un inhibidor del transporte de ATP fuera de las mitocondrias en el citosol.
E. Un desacoplador de transporte de electrones mitocondrial y fosforilación oxidativa.

13. El flujo de electrones a través de la cadena respiratoria y la producción de ATP normalmente están estrechamente unidos. ¿Los procesos están desacoplados por cuál de los siguientes?
    A. Cianuro
    B. Oligomicina
    C. Termogenina
    D. Monóxido de carbono
    E. Sulfuro de hidrógeno
14. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del ATP sintasa es INCORRECTA?
    A. Está ubicado en la membrana mitocondrial interna.
    B. Requiere una fuerza motriz del protón para formar ATP en presencia de ADP y Pi.
    C. ATP se produce cuando parte de la molécula gira.
    D. Se forma una molécula de ATP por cada revolución completa de la molécula.
    E. El subcomplejo F_1 se fija a la membrana y no gira.
15. La teoría quimiosmótica de Peter Mitchell propone un mecanismo para el estrecho acoplamiento del transporte de electrones a través de la cadena respiratoria con el proceso de fosforilación oxidativa. ¿Cuál de las siguientes opciones NO está predicha por la teoría?
    A. Un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna generado por el transporte de electrones impulsa la síntesis de ATP.
    B. La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna causada por el transporte de electrones es positiva en el lado de la matriz.
    C. Los protones se bombean a través de la membrana mitocondrial interna a medida que los electrones pasan por la cadena respiratoria.
    D. Un aumento en la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna a los protones desacopla los procesos de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa.
    E. La síntesis de ATP ocurre cuando la diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana se descarga mediante la translocación de protones a través de la membrana mitocondrial interna mediante una enzima ATP sintasa.

SECCIÓN

IV

Metabolismo de los carbohidratos

CAPÍTULO

14

Visión general del metabolismo y la disposición de los combustibles metabólicos

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar qué son las vías metabólicas anabólicas, catabólicas y anfibólicas.
- Describir en líneas generales el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y los aminoácidos, a nivel de tejidos y órganos, así como a nivel subcelular, y la interconversión de los combustibles metabólicos.
- Describir cómo se regula el flujo de metabolitos a través de las vías metabólicas.
- Describir cómo se proporciona un suministro de combustibles metabólicos durante la alimentación y el ayuno; la formación de reservas de combustibles metabólicos durante la alimentación y su movilización en el ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Metabolismo es el término utilizado para describir la interconversión de compuestos químicos en el cuerpo, las vías que toman las moléculas individuales, sus interrelaciones y los mecanismos que regulan el flujo de metabolitos a través de las vías, las cuales se dividen en tres categorías. 1) Las **vías anabólicas** son endotérmicas y se involucran en la síntesis de compuestos más grandes y más complejos a partir de precursores más pequeños, por ejemplo, la síntesis de proteínas a partir de aminoácidos y la síntesis de reservas del triacilglicerol y el glucógeno. 2) Las **vías catabólicas** son exotérmicas y se involucran en la descomposición de las moléculas más grandes, que por lo general provocan reacciones oxidativas. Producen equivalentes reductores y, principalmente, la vía de la cadena respiratoria (véase capítulo 13), el ATP. 3) Las **vías anfibólicas** se producen en las "encrucijadas" del metabolismo, actuando como enlaces entre las vías anabólicas y las catabólicas, por ejemplo, el ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16).

El conocimiento del metabolismo normal es esencial para la comprensión de las anomalías que subyacen en la enfermedad. El metabolismo normal incluye la adaptación a periodos de ayuno, la inanición y el ejercicio, así como al embarazo y la lactancia. El metabolismo anormal puede ser el resultado de la deficiencia nutricional, la deficiencia de enzimas, la secreción anormal de hormonas o las acciones de fármacos y toxinas.

Un ser humano adulto de 70 kg requiere entre 8 y 12 MJ (1 920-2 900 kcal) de combustibles metabólicos por día, en dependencia de la actividad física. Los animales más grandes requieren menos por kilogramo de peso corporal, y los animales más pequeños, más. Los niños y animales en crecimiento tienen un requerimiento proporcionalmente mayor para permitir el costo de energía del crecimiento. Para los seres humanos, este requerimiento de energía se obtiene de los carbohidratos (40-60%), los lípidos (sobre todo el triacilglicerol, 30-40%) y las proteínas (10-15%), así como del alcohol. La mezcla de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas que se oxidan varía, en dependencia de si el sujeto está en estado de ayuno o de alimentación, y de la duración e intensidad del trabajo físico. Existe un requerimiento constante de combustibles metabólicos a lo largo del día; la actividad física promedio incrementa la tasa metabólica en aproximada-

mente 40 a 50% sobre la tasa metabólica basal o en reposo. Sin embargo, la mayoría de las personas consumen su gasto diario de combustibles metabólicos en dos o tres comidas, por lo que es necesario formar reservas de carbohidratos (el glucógeno en el hígado y los músculos), lípidos (el triacilglicerol en el tejido adiposo) y reservas de proteínas lábiles durante el periodo después de una comida, para usar durante el tiempo intermedio, cuando no hay ingesta de alimentos.

Si la ingesta de combustibles metabólicos es mucho mayor que el gasto de energía, el excedente se almacena, principalmente triacilglicerol, en el tejido adiposo, lo que conduce al desarrollo de la **obesidad** y sus riesgos asociados para la salud. Por el contrario, si el consumo de combustibles metabólicos es mucho menor que el gasto energético, hay reservas insignificantes de grasas y carbohidratos, y si los aminoácidos derivados del recambio de proteínas se utilizan para el metabolismo que produce energía, en lugar de la síntesis de proteínas de reemplazo, esto conduce a la **emaciación**, desgaste y, finalmente, la muerte (véase capítulo 43).

Durante la alimentación, después de una comida hay un amplio suministro de carbohidratos, y el combustible metabólico para la mayoría de los tejidos es la glucosa. En el estado de ayuno, la glucosa debe ser preservada para su uso por el sistema nervioso central (que depende en gran medida de la glucosa) y los glóbulos rojos (que dependen de la glucosa). Por tanto, los tejidos que pueden usar combustibles distintos a la glucosa lo hacen; el músculo y el hígado oxidan los ácidos grasos, y el hígado sintetiza los cuerpos cetónicos de los ácidos grasos para exportarlos a los músculos y a otros tejidos. A medida que las reservas de glucógeno se agotan, los aminoácidos derivados del recambio de proteínas se utilizan para la **gluconeogénesis** (véase capítulo 19).

La formación y utilización de las reservas del triacilglicerol y el glucógeno, y el grado en que los tejidos captan y oxidan la glucosa, están controlados en gran medida por las hormonas **insulina** y **glucagón**. En la **diabetes mellitus**, hay alteración en la síntesis y secreción de la insulina (diabetes tipo I, algunas veces llamada de aparición juvenil o diabetes insulinodependiente) o una sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina (diabetes tipo II, a veces llamada de inicio en adultos o diabetes no insulinodependiente), que conduce a un trastorno metabólico grave. En el ganado, las demandas intensas de lactancia pueden conducir a la cetosis, al igual que las demandas del embarazo gemelar en las ovejas.

VÍAS QUE PROCESAN LOS PRINCIPALES PRODUCTOS DE LA DIGESTIÓN

La naturaleza de la dieta establece el patrón básico del metabolismo. Existe la necesidad de procesar en la dieta los productos de la digestión de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas: la glucosa, los ácidos grasos y el glicerol, y los aminoácidos, respectivamente.

En los rumiantes (y, en menor medida, en otros herbívoros), la celulosa dietética se fermenta mediante los microorganismos simbióticos a ácidos grasos de cadena corta (el acético, el propiónico, el butírico), y el metabolismo en estos animales se adapta para usar estos ácidos grasos como sustratos principales. Todos los productos de la digestión se metabolizan a un **producto común**, la **acetil-CoA**, que luego se oxida por el **ciclo del ácido cítrico** (véase capítulo 16) (**figura 14-1**).

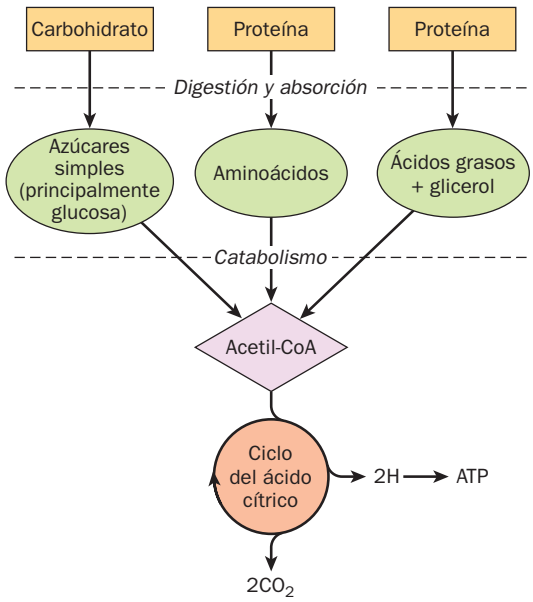


FIGURA 14-1 Esquema de las vías para el catabolismo de los carbohidratos, las proteínas y las grasas. Todas estas vías conducen a la producción de la acetil-CoA, que se oxida en el ciclo del ácido cítrico, produciendo ATP en última instancia por el proceso de fosforilación oxidativa.

El metabolismo de los carbohidratos se centra en la disposición y el destino de la glucosa

La glucosa es el principal combustible de la mayoría de los tejidos (**figura 14-2**). Se metaboliza a piruvato por la vía de la **glucólisis** (véase capítulo 17). Los tejidos aeróbicos metabolizan el piruvato a **acetil-CoA**, que puede entrar en el ciclo del ácido cítrico para la oxidación completa a CO_2 y a H_2O, vinculado a la formación de ATP en el proceso de **fosforilación oxidativa** (véase figura 13-2). La glucólisis también puede ocurrir anaeróbicamente (en ausencia del oxígeno) y entonces el producto final es el lactato.

La glucosa y sus metabolitos también forman parte de otros procesos, por ejemplo, la síntesis del polímero de almacenamiento **glucógeno** en el músculo esquelético y el hígado (véase capítulo 18) y la **vía de la pentosa fosfato**, una alternativa aparte de la vía de la glucólisis (véase capítulo 20). Es una fuente de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos (véase capítulo 23) y la fuente de **ribosa** para la síntesis de los nucleótidos y los ácidos nucleicos (véase capítulo 33). Los intermediarios de la triosa fosfato en la glucólisis dan lugar al **resto del glicerol** de los triacilgliceroles. El piruvato y los intermediarios del ciclo del ácido cítrico proporcionan los esqueletos de carbono para la síntesis de **aminoácidos** no esenciales o dispensables (véase capítulo 27), y el acetil-CoA es el precursor de los **ácidos grasos** (véase capítulo 23) y del **colesterol** (véase capítulo 26); por tanto, de todas las hormonas esteroides sintetizadas en el cuerpo. La **gluconeogénesis** (véase capítulo 19) es el proceso de síntesis de la glucosa a partir de precursores no carbohidratos tales como el lactato, los aminoácidos y el glicerol.

El metabolismo lipídico se refiere principalmente a los ácidos grasos y al colesterol

La fuente de ácidos grasos de cadena larga es la de lípidos dietéticos, o la síntesis *de novo*, a partir de la acetil-CoA derivada de los

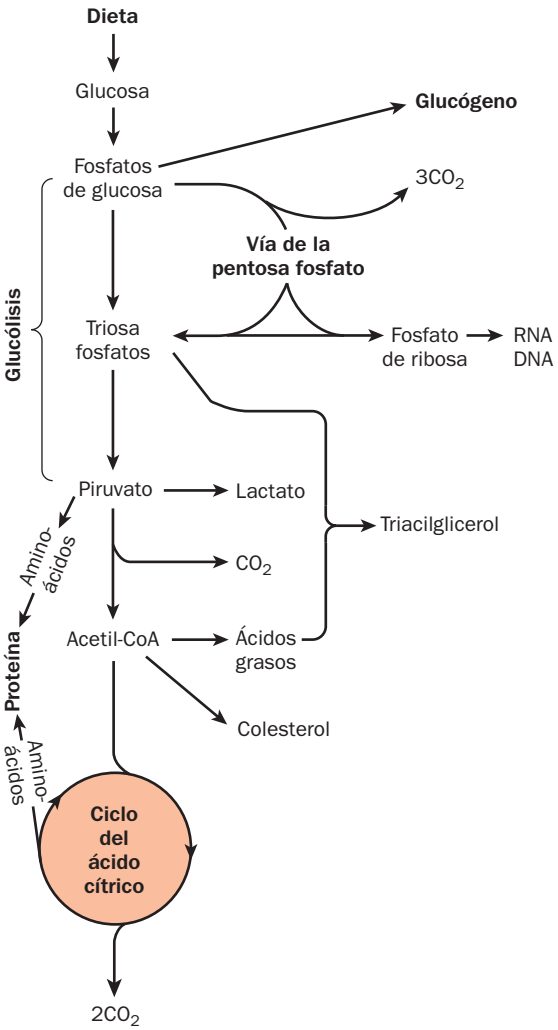


FIGURA 14-2 **Esquema general del metabolismo de los carbohidratos que muestra las principales vías y los productos finales.** La gluconeogénesis no se muestra.

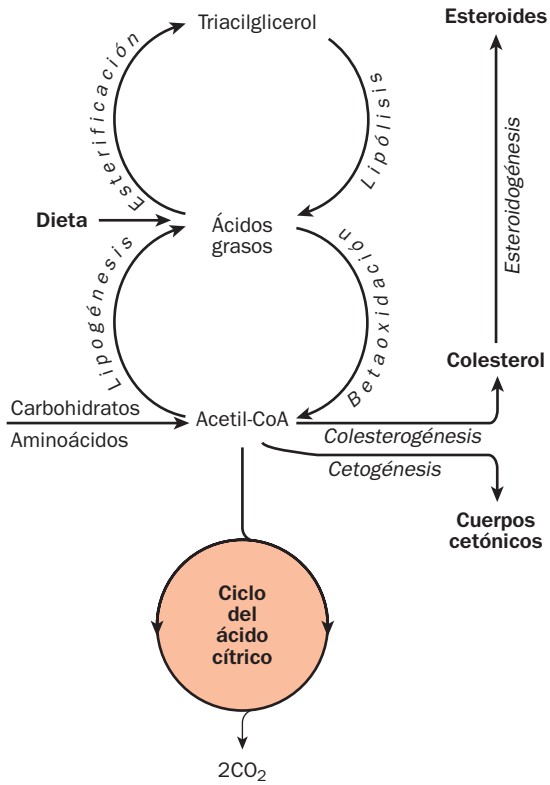


FIGURA 14-3 **Esquema del metabolismo de los ácidos grasos que muestra las principales vías y productos finales.** Los cuerpos cetónicos son el acetoacetato, el 3-hidroxibutirato y la acetona (que se forma no enzimáticamente por la descarboxilación del acetoacetato).

carbohidratos o los aminoácidos. Los ácidos grasos se pueden oxidar hasta **acetil-CoA** (**betaoxidación**) o esterificarse con el glicerol, formando el **triacilglicerol** como reserva de combustible principal del cuerpo.

La acetil-CoA formada por la betaoxidación de ácidos grasos puede seguir tres destinos (**figura 14-3**):

1. Al igual que con el acetil-CoA derivado de la glucólisis, se **oxida** a $CO_2 + H_2O$ a través del ciclo del ácido cítrico.
2. Ser el precursor de la síntesis de **colesterol** y otros **esteroides**.
3. En el hígado, se usa para formar los **cuerpos cetónicos**, el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato (véase capítulo 22), que son combustibles importantes en el ayuno prolongado y la inanición.

Gran parte del metabolismo de los aminoácidos implica la transaminación

Los aminoácidos son necesarios para la síntesis de proteínas (**figura 14-4**). Algunos deben ser incluidos en la dieta (los **aminoácidos esenciales** o **indispensables**), ya que no pueden ser sintetizados en el cuerpo. El resto son **aminoácidos no esenciales** o **dispensables**, que se suministran en la dieta, pero también se pueden formar a partir de intermediarios metabólicos mediante la **transaminación** usando el grupo amino de otros aminoácidos (véase capítulo 27). Después de la **desaminación**, el nitrógeno amino se excreta como **urea** y los esqueletos de carbono que permanecen después de la transaminación pueden 1) oxidarse a CO_2 a través del ciclo del ácido cítrico, 2) utilizarse para sintetizar la glucosa (gluconeogénesis, véase capítulo 19), o 3) formar cuerpos cetónicos o acetil-CoA, que pueden oxidarse o usarse para la síntesis de ácidos grasos (véase capítulo 28).

Varios aminoácidos también son precursores de otros compuestos, por ejemplo, las purinas, las pirimidinas, las hormonas como la adrenalina y la tiroxina, y los neurotransmisores.

LAS VÍAS METABÓLICAS PUEDEN ESTUDIARSE A DIFERENTES NIVELES DE ORGANIZACIÓN

Además de los estudios en todo el organismo, la localización y la integración de las vías metabólicas se revela mediante estudios en dos niveles de organización. A **nivel de tejido y de órgano** se puede medir la naturaleza de los sustratos que entran y los metabolitos que salen de los tejidos y los órganos. A **nivel subcelular**, cada orgánulo celular (p. ej., la mitocondria) o el compartimiento (p. ej., el citosol) tiene funciones específicas que forman parte de un patrón subcelular de vías metabólicas.

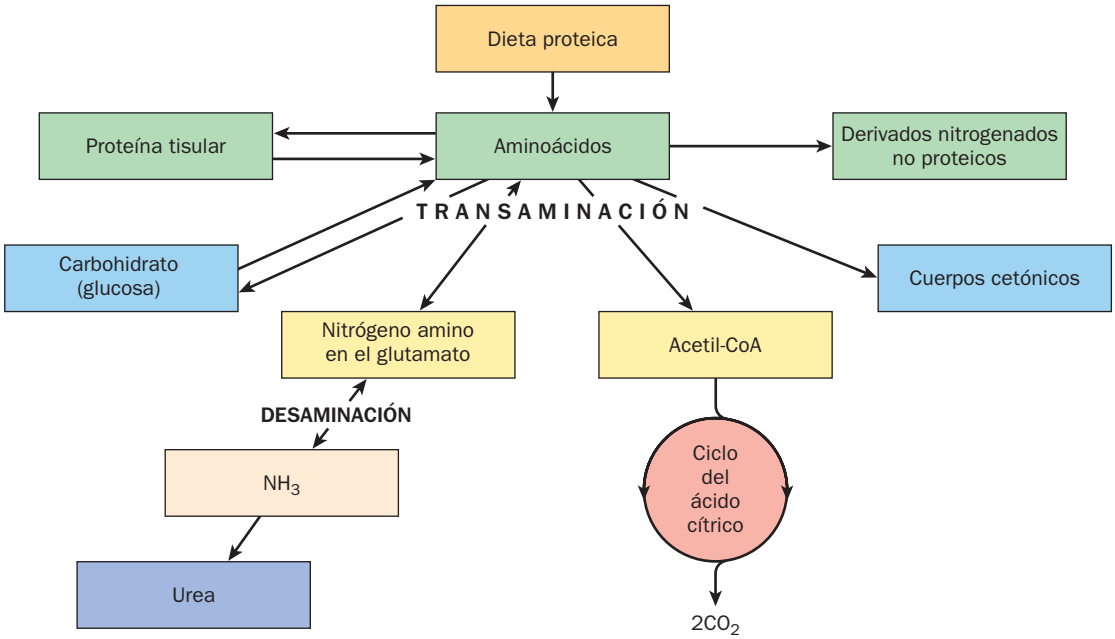


FIGURA 14-4 **Descripción general del metabolismo de los aminoácidos que muestra las principales vías y los productos finales.**

A nivel de tejido y órgano, la circulación sanguínea integra el metabolismo

Los **aminoácidos** resultantes de la digestión de la proteína de la dieta y la **glucosa** resultantes de la digestión de los carbohidratos se absorben a través de la vena porta-hepática. El hígado tiene la función de regular la concentración sanguínea de estos metabolitos solubles en agua (**figura 14-5**). En el caso de la glucosa, esto se consigue tomando más cantidad de la requerida y usándola para sintetizar el glucógeno (la **glucogénesis**, capítulo 18) o los ácidos grasos (la **lipogénesis**, capítulo 23). Entre las comidas, el hígado actúa para mantener la concentración de glucosa en sangre al descomponer el glucógeno (la **glucogenólisis**, capítulo 18) y, junto con el riñón, convirtiendo los metabolitos que no son carbohidratos como el lactato, el glicerol y los aminoácidos en glucosa (la **gluconeogénesis**, capítulo 19). El mantenimiento de una concentración

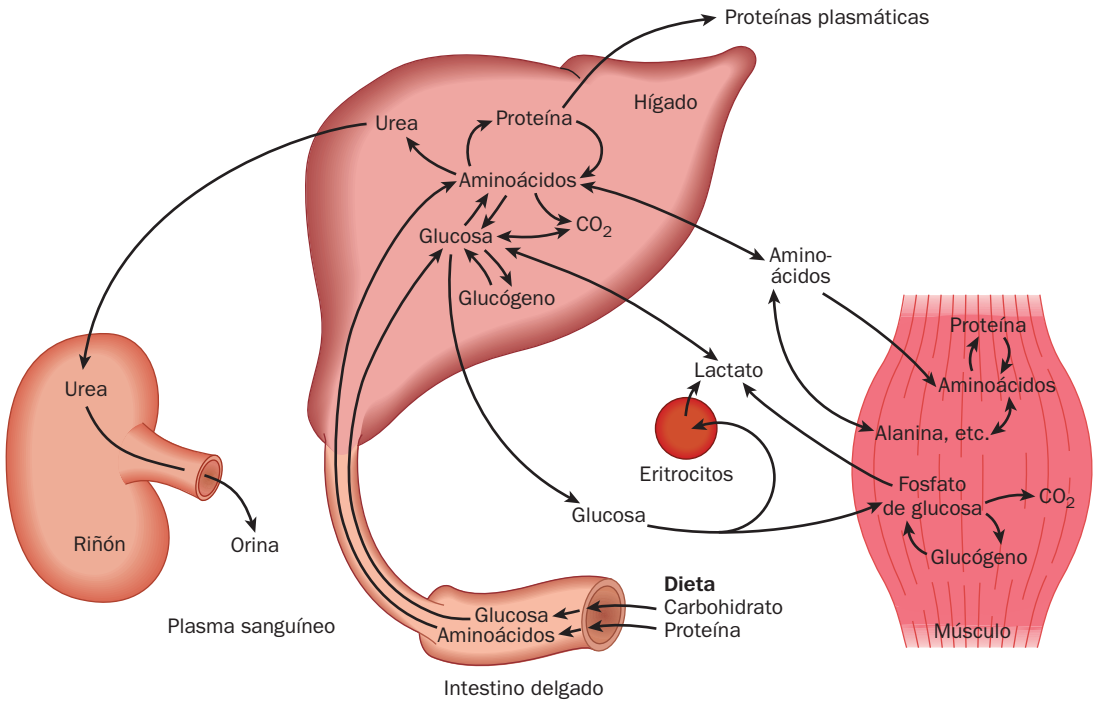


FIGURA 14-5 **Transporte y destino de los principales sustratos y metabolitos de los carbohidratos y los aminoácidos.** Nótese que existe poca glucosa libre en el músculo, ya que se fosforila rápidamente después de la captación.

sanguínea adecuada de glucosa es esencial para aquellos tejidos para los cuales es el combustible principal (el cerebro) o el único combustible (los eritrocitos). El hígado también **sintetiza las proteínas plasmáticas principales** (p. ej., la albúmina) y **desamina aminoácidos** que exceden los requerimientos, sintetizando urea, que se transporta al riñón y se excreta (véase capítulo 28).

El **músculo esquelético** utiliza la glucosa como combustible, tanto aeróbicamente, formando el CO_2, como anaeróbicamente, formando el lactato. Almacena glucógeno como combustible para usar en la contracción muscular, y sintetiza la proteína muscular a partir de los aminoácidos en el plasma. El músculo representa alrededor de 50% de la masa corporal y, en consecuencia, es un considerable almacén de proteínas del que se pueden extraer aminoácidos para la gluconeogénesis en la inanición (véase capítulo 19).

Los **lípidos** principales de la dieta (**figura 14-6**) son los triacilgliceroles que se hidrolizan a monoacilgliceroles y a ácidos grasos en el intestino, luego se reesterifican en la mucosa intestinal. Aquí son empaquetados con las proteínas y secretados al sistema linfático, y de allí al torrente sanguíneo como **quilomicrones**, la mayor de las **lipoproteínas** plasmáticas (véase capítulo 25). Los quilomicrones también contienen otros nutrientes solubles en lípidos, incluidas las vitaminas A, D, E y K (véase capítulo 44). A diferencia de la glucosa y los aminoácidos absorbidos del intestino delgado, el triacilglicerol del quilomicrón no es captado directamente por el hígado. Primero se metaboliza por los tejidos que tienen **lipoproteína lipasa**, que hidroliza el triacilglicerol, liberando los ácidos grasos que se incorporan a los lípidos tisulares, o se oxidan como combustible. Los quilomicrones restantes son eliminados por el hígado. La otra fuente principal de ácidos grasos de cadena larga es la síntesis (la **lipogénesis**) de los carbohidratos, el tejido adiposo y el hígado (véase capítulo 23).

El triacilglicerol en el tejido adiposo es la principal reserva de combustible del cuerpo. Se hidroliza (**lipólisis**) y se liberan a la circulación el glicerol y los ácidos grasos no esterificados (libres). El glicerol es un sustrato para la gluconeogénesis (véase capítulo 19). Los ácidos grasos se transportan unidos a la albúmina sérica; son absorbidos por la mayoría de los tejidos (pero no por el cerebro o los eritrocitos) y esterificados a triacilgliceroles para su almacenamiento u oxidados como combustible. En el hígado, el triacilglicerol recién sintetizado a partir de los restos de quilomicrones (véase figura 25-3) se secreta a la circulación en la **lipoproteína de muy baja densidad (VLDL**, *very low-density lipoprotein*). Este triacilglicerol sufre un destino similar al de los quilomicrones. La oxidación parcial de los ácidos grasos en el hígado conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** (la **cetogénesis**, capítulo 22). Los cuerpos cetónicos se exportan a los tejidos extrahepáticos, donde proporcionan un combustible en el ayuno prolongado o en la inanición.

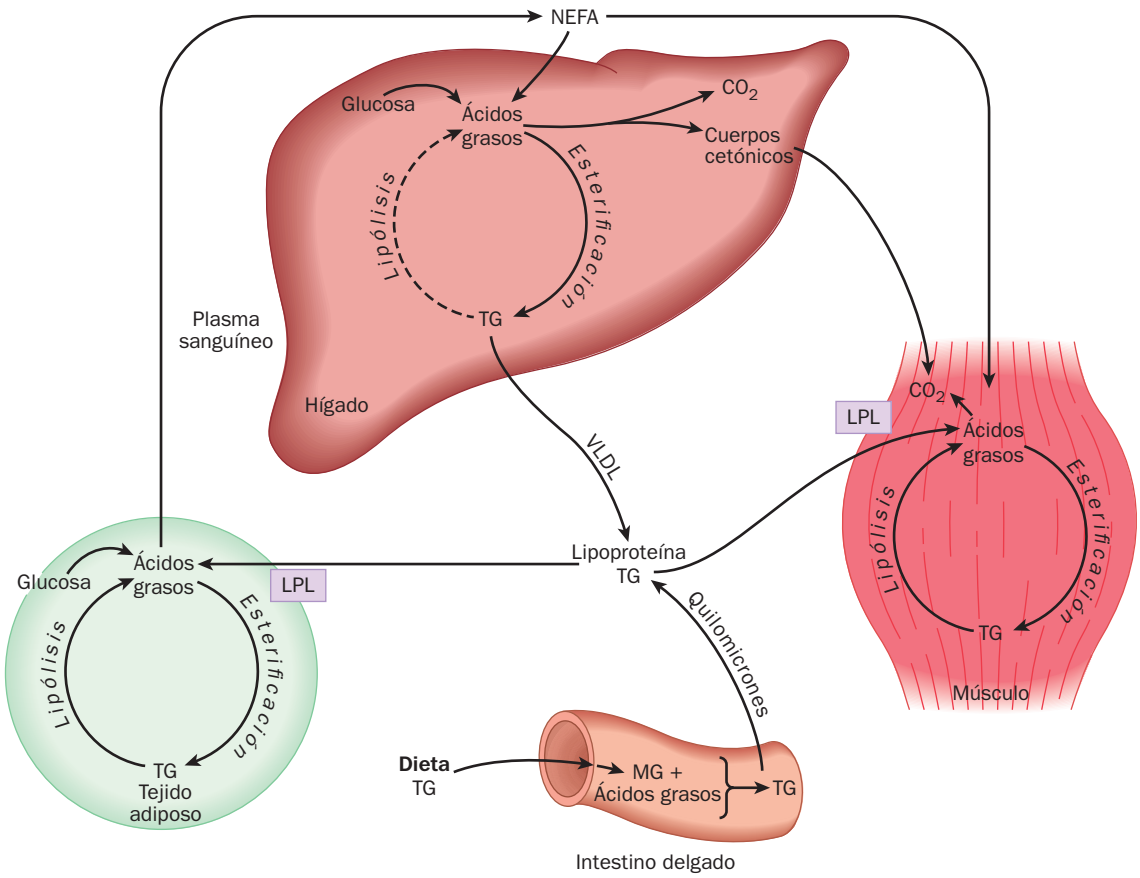


FIGURA 14-6 Transporte y destino de los principales sustratos lipídicos y metabolitos. [LPL (*lipoprotein lipase*): lipoproteína lipasa; MG (*monoacylglycerol*): monoacilglicerol; NEFA (*nonesterified fatty acids*): ácidos grasos no esterificados; TG (*triacylglycerol*): triacilglicerol; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad].

En el nivel subcelular, la glucólisis se produce en el citosol y el ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias

La compartimentación de vías en compartimientos subcelulares separados u orgánulos permite la integración y la regulación del metabolismo. No todas las vías son de igual importancia en todas las células. En la **figura 14-7** se muestra la compartimentación subcelular de las vías metabólicas en una célula parenquimatosa hepática.

La función central de la **mitocondria** es inmediatamente evidente, ya que actúa como el foco del metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y los aminoácidos. Contiene las enzimas del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16), la betaoxidación de los ácidos grasos y la cetogénesis (véase capítulo 22), así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa (véase capítulo 13).

La glucólisis (véase capítulo 17), la vía de la pentosa fosfato (véase capítulo 20) y la síntesis de los ácidos grasos (véase capítulo 23) se producen en el citosol. En la gluconeogénesis (véase capítulo 19), los sustratos como el lactato y el piruvato, que se forman en el citosol, entran en la mitocondria para producir el **oxalacetato** como un precursor de la síntesis de la glucosa en el citosol.

Las membranas del **retículo endoplasmático** contienen el sistema enzimático para la **síntesis del triacilglicerol** (véase capítulo 24) y los **ribosomas** son responsables de la **síntesis de las proteínas** (véase capítulo 37).

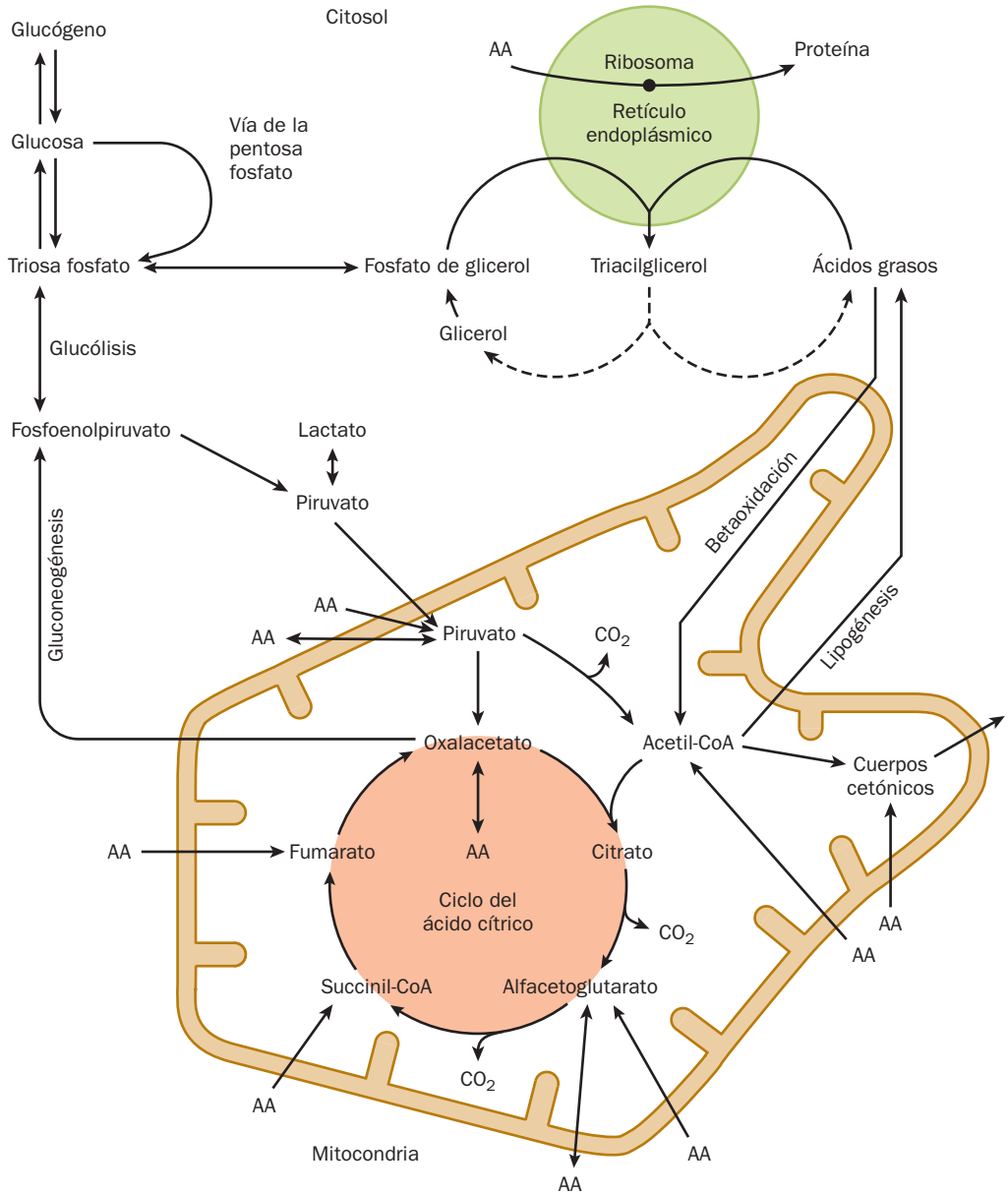


FIGURA 14-7 Ubicación intracelular y visión general de las principales vías metabólicas en una célula parenquimatosa hepática. (AA →, metabolismo de uno o más aminoácidos esenciales; AA ↔, metabolismo de uno o más aminoácidos no esenciales.)

EL FLUJO DE METABOLITOS A TRAVÉS DE LAS VÍAS METABÓLICAS DEBE REGULARSE DE MANERA AJUSTADA

La regulación del flujo completo a través de una vía es importante para garantizar un suministro adecuado de los productos de esa vía. Se logra mediante el control de una o más reacciones clave en la ruta, catalizadas por las **enzimas reguladoras**. Los factores fisicoquímicos que controlan la velocidad de una reacción catalizada por enzimas, como la concentración de sustrato, son de importancia primaria en el control de la velocidad completa de una vía metabólica (véase capítulo 9).

Las reacciones que no estén en equilibrio son puntos de control potenciales

En una reacción en equilibrio, las reacciones en ambos sentidos ocurren a tasas iguales y, por tanto, no hay flujo neto en ninguna dirección.

$$A \leftrightarrow C \leftrightarrow D$$

In vivo, en condiciones de "estado en equilibrio", hay un flujo neto de izquierda a derecha porque hay un suministro continuo de sustrato A y eliminación continua del producto D. En la práctica, es normal que haya una o más reacciones que **no estén en equilibrio** en una vía metabólica, donde los reactivos están presentes en concentraciones alejadas del equilibrio. Al intentar alcanzar el equilibrio, ocurren grandes pérdidas de energía libre, lo que hace que este tipo de reacción sea esencialmente irreversible. Tal vía tiene flujo y dirección. Las enzimas que catalizan las reacciones que no están en equilibrio se encuentran presentes, de manera general, en baja concentración, y se hallan sujetas a una variedad de mecanismos reguladores. Sin embargo, la mayoría de las reacciones en las vías metabólicas no se pueden clasificar como equilibrio o desequilibrio, sino que se ubican en algún lugar entre los dos extremos.

La reacción de generación de flujo es la primera reacción en una vía que está saturada con el sustrato

La reacción de generación de flujo se puede identificar como una reacción que no está en equilibrio, en la cual la K_m de la enzima es muchísimo más baja que la concentración normal del sustrato. La primera reacción en la glucólisis, catalizada por la hexocinasa (consúltese figura 17-2), es un paso generador de flujo debido a que su K_m para glucosa de 0.05 mmol/L está muy por debajo de la concentración normal de glucosa en la sangre de 3 a 5 mmol/L. Las reacciones posteriores controlan la velocidad del flujo a través de la vía.

LOS MECANISMOS HORMONALES Y ALOSTÉRICOS SON IMPORTANTES EN EL CONTROL METABÓLICO DE LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS

En la vía metabólica que se muestra en la **figura 14-8**,

$$A \leftrightarrow B \rightarrow C \leftrightarrow D$$

las reacciones A ↔ B y C ↔ D son reacciones de equilibrio y B → C es una reacción que no está en equilibrio. El flujo a través de esta vía puede regularse por la disponibilidad del sustrato A. Esto depende de su suministro de la sangre, que a su vez depende del consumo de alimentos o reacciones clave, que liberan sustratos de las reservas tisulares en el torrente sanguíneo, por ejemplo, la glucógeno fosforilasa en el hígado (véase figura 18-1) y en la lipasa

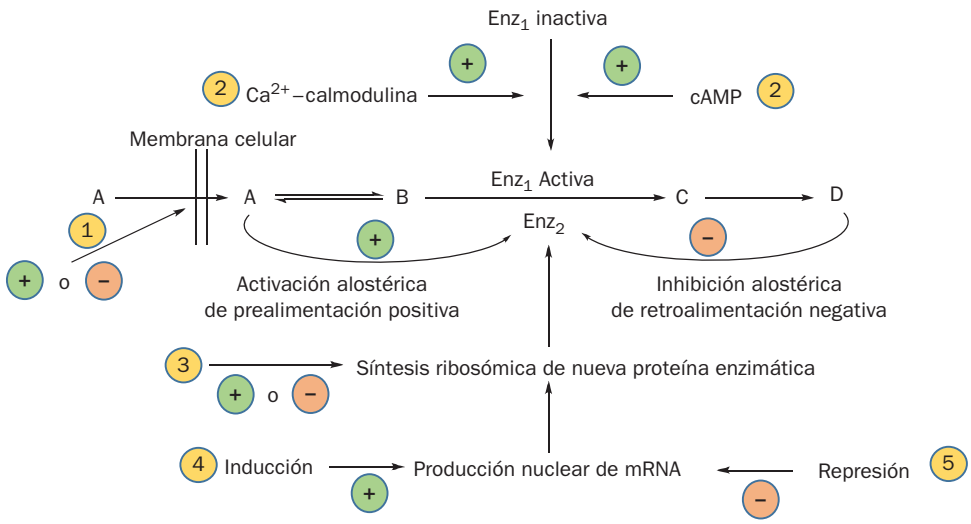


FIGURA 14-8 Mecanismos de control de una reacción catalizada por enzima. Los números circulados indican los posibles sitios de acción de las hormonas: ① alteración de la permeabilidad de la membrana; ② conversión de una enzima inactiva a una enzima activa, que generalmente implica reacciones de fosforilación/desfosforilación; ③ alteración de la velocidad de traducción del mRNA a nivel ribosómico; ④ inducción de nueva formación de mRNA, y ⑤ represión de la formación de mRNA. ① y ② son mecanismos rápidos de regulación, mientras que ③, ④ y ⑤ son más lentos.

sensible a las hormonas en el tejido adiposo (véase figura 25-8). También depende del transporte del sustrato A en la célula.

Los músculos y el tejido adiposo sólo captan la glucosa del torrente sanguíneo en respuesta a la hormona insulina. El flujo también se determina mediante la eliminación del producto final D y la disponibilidad de cosustratos o cofactores representados por X y Y. Las enzimas que catalizan reacciones que no están en equilibrio son a menudo proteínas alostéricas sujetas a las acciones rápidas de control de "retroalimentación" o "prealimentación" mediante los **modificadores alostéricos**, en respuesta inmediata a las necesidades de la célula (véase capítulo 9). Con frecuencia, el producto final de una vía biosintética inhibe la enzima que cataliza la primera reacción en la vía. Otros mecanismos de control dependen de la acción de las **hormonas** que responden a las necesidades del cuerpo como un todo; pueden actuar de forma rápida al alterar la actividad de las moléculas de enzima existentes, o de manera lenta al alterar la velocidad de síntesis de las enzimas (véase capítulo 42).

MUCHOS COMBUSTIBLES METABÓLICOS SON INTERCONVERTIBLES

Los carbohidratos en exceso de los requerimientos para el metabolismo productor de energía inmediata, y la formación de las reservas de glucógeno en el músculo y el hígado, se pueden usar fácilmente para la síntesis de los ácidos grasos y, por tanto, del triacilglicerol tanto en el tejido adiposo como en el hígado (de donde se exporta en las lipoproteínas de muy baja densidad). La importancia de la lipogénesis en los seres humanos no está clara; en los países occidentales la grasa dietética proporciona de 35 a 45% del consumo de energía, mientras que en los países menos desarrollados, donde los carbohidratos pueden proporcionar de 60 a 75% del consumo energético, la ingesta total de alimentos es tan baja que hay poco excedente para la lipogénesis. Un alto consumo de grasa inhibe la lipogénesis en el tejido adiposo y en el hígado.

Los ácidos grasos (y los cuerpos cetónicos formados a partir de ellos) no pueden usarse para la síntesis de la glucosa. La reacción de piruvato deshidrogenasa, formando acetil-CoA, es irreversible, y por cada unidad de dos carbonos de acetil-CoA que ingresa en el ciclo del ácido cítrico hay una pérdida de dos átomos de carbono como dióxido de carbono, antes de que se reforme el oxalacetato. Esto significa que la acetil-CoA (y por tanto cualquier sustrato que produzca acetil-CoA) nunca se puede usar para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono (relativamente poco frecuentes) producen el propionil-CoA como el producto del ciclo final de la betaoxidación, y este puede ser un sustrato para la gluconeogénesis, como el glicerol liberado por la lipólisis de las reservas de triacilglicerol del tejido adiposo.

La mayoría de los aminoácidos que superan los requerimientos para la síntesis de proteínas (que surgen de la dieta o del recambio de proteínas en los tejidos) producen el piruvato, o productos intermediarios de cuatro y cinco carbonos del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 29). El piruvato se puede carboxilar a oxalacetato, que es el sustrato principal para la gluconeogénesis, y los otros intermediarios del ciclo también dan como resultado un aumento neto en la formación del oxalacetato, que luego está disponible para la gluconeogénesis. Estos aminoácidos se clasifican como **glucogénicos**. Dos aminoácidos (la lisina y la leucina) producen sólo la acetil-CoA en la oxidación y, por tanto, no puede utilizarse para la gluconeogénesis, y otros cuatro (la fenilalanina, la tirosina, el triptófano e isoleucina) dan lugar tanto a la acetil-CoA como a los intermediarios, que pueden usarse para la gluconeogénesis. Aquellos aminoácidos provocan el aumento de la acetil-CoA, que se conoce como **cetogénico**, porque en el ayuno prolongado y la inanición, gran parte de la acetil-CoA se utiliza para la síntesis de los cuerpos cetónicos en el hígado.

UN SUMINISTRO DE COMBUSTIBLES METABÓLICOS SE PROPORCIONA DURANTE LA ALIMENTACIÓN Y EL AYUNO

El sistema nervioso central y los eritrocitos siempre necesitan glucosa

Los eritrocitos carecen de mitocondrias y, por tanto, dependen por completo de la glucólisis (anaeróbica) y de la vía de la pentosa fosfato en todo momento. El cerebro puede metabolizar los cuerpos cetónicos para cumplir con aproximadamente 20% de sus requerimientos de energía; el resto debe ser suministrado por la glucosa. Los cambios metabólicos que ocurren en el ayuno o en la inanición sirven para preservar la glucosa y las limitadas reservas de glucógeno del cuerpo para el uso del cerebro y los glóbulos rojos, y para proporcionar combustibles metabólicos alternativos para otros tejidos. En el embarazo, el feto requiere de una cantidad significativa de glucosa, al igual que la síntesis de la lactosa en la lactancia (**figura 14-9**).

Durante la alimentación, las reservas de combustible metabólico se depositan

Durante varias horas después de una comida, mientras se absorben los productos de la digestión, hay un suministro abundante de combustibles metabólicos. En estas condiciones, la glucosa es el principal combustible para la oxidación en la mayoría de los tejidos; esto se observa como un incremento en el cociente respiratorio (la proporción de dióxido de carbono producido/oxígeno consumido) de casi 0.8 en el estado de ayuno a cerca de 1 (**cuadro 14-1**).

La captación de glucosa en los músculos y el tejido adiposo está controlada por la **insulina**, que es secretada por las células β de los islotes del páncreas en respuesta a una concentración aumentada de glucosa en la sangre portal. En estado de ayuno, el transportador de glucosa del músculo y el tejido adiposo (GLUT-4) se encuentra en las vesículas intracelulares. Una respuesta temprana a la insulina es la migración de estas vesículas a la superficie de la célula, donde se fusionan con la membrana plasmática, exponiendo los transportadores de la glucosa activa. Estos tejidos sensibles a la insulina, sólo captan la glucosa del torrente sanguíneo de forma significativa en presencia de la hormona. A medida que la secreción de insulina cae en el estado de ayuno, los transportadores se internalizan otra vez, reduciendo el consumo de la glucosa. Sin embargo, en el músculo esquelético, el incremento de la concentración citoplasmática de iones de calcio en respuesta a la estimulación nerviosa, incita la migración de las vesículas a la superficie celular, y la exposición de los transportadores de glucosa activa, ya sea que haya estimulación significativa de la insulina o no.

La captación de glucosa en el hígado es independiente de la insulina, pero aquel tiene una isoenzima de hexocinasa (glucocinasa)

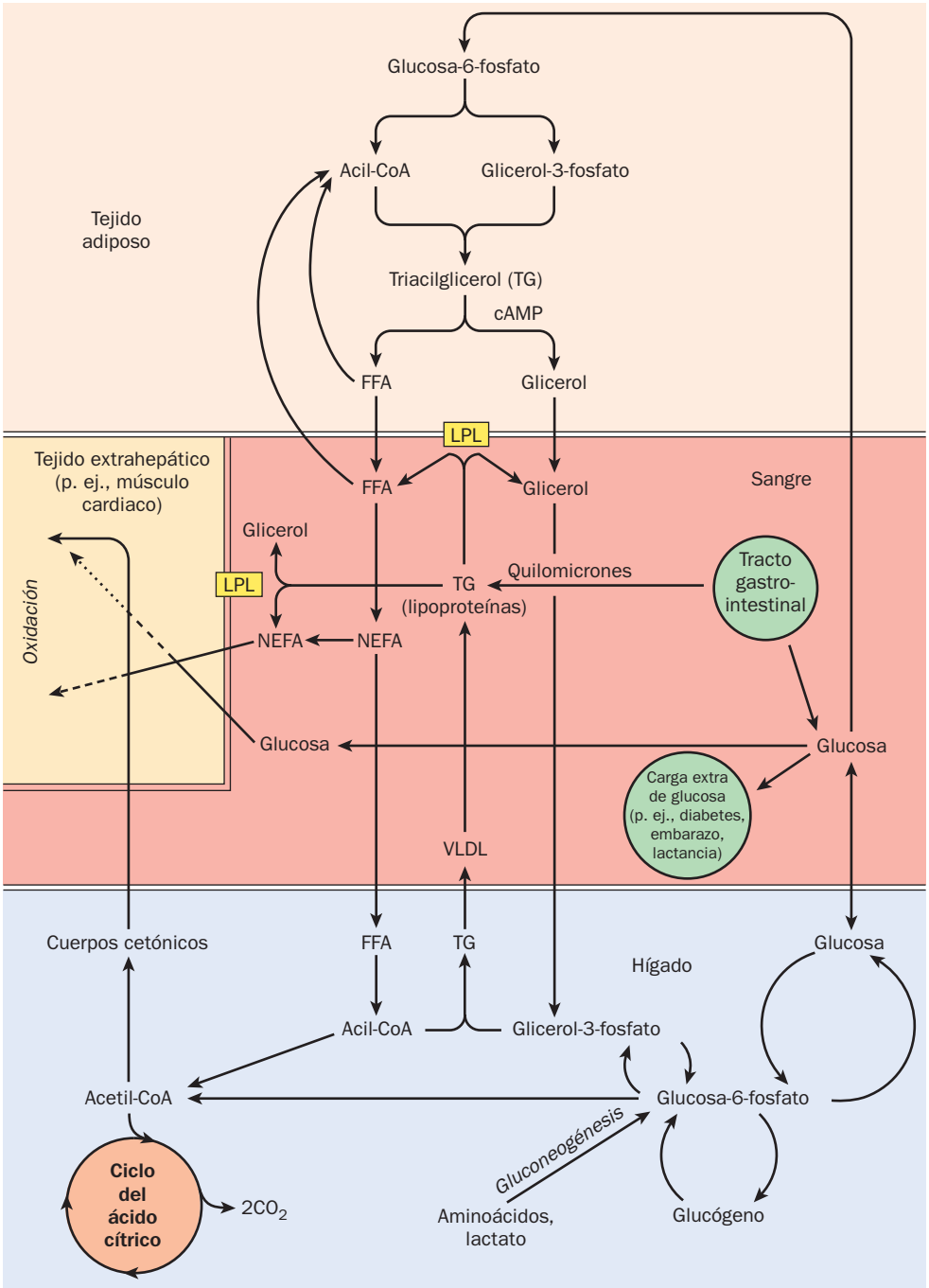


FIGURA 14-9 Interrelaciones metabólicas entre el tejido adiposo, el hígado y los tejidos extrahepáticos. En tejidos como el corazón, los combustibles metabólicos se oxidan en el siguiente orden de preferencia: cuerpos cetónicos > ácidos grasos > glucosa. (LPL: lipoproteína lipasa; NEFA: ácidos grasos no esterificados; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.)

con una K_m alta. Por tanto, a medida que aumenta la concentración de glucosa que ingresa al hígado, también lo hace la tasa de síntesis de glucosa-6-fosfato. Esto excede los requerimientos del hígado para el metabolismo que produce energía, y se usa principalmente para la síntesis del **glucógeno**. Tanto en el hígado como en el músculo esquelético, la insulina actúa para estimular la glucógeno sintasa e inhibir la glucógeno fosforilasa. Parte de la glucosa adicional que ingresa al hígado también puede usarse para la lipogénesis y, por tanto, para la síntesis de triacilglicerol. En el tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa, su conversión a ácidos grasos y su esterificación al triacilglicerol. Inhibe la lipólisis intracelular y la liberación de ácidos grasos no esterificados.

Los productos de la digestión de los lípidos entran en la circulación como **quilomicrones**, la mayoría de las lipoproteínas plasmáticas, que son muy ricas en triacilglicerol (véase capítulo 25). En el tejido adiposo y el músculo esquelético, la lipoproteína lipasa extracelular se sintetiza y activa en respuesta a la insulina; los ácidos grasos no esterificados resultantes son absorbidos en gran medida

CUADRO 14-1 Rendimientos de energía, consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono en la oxidación de combustibles metabólicos

	Rendimiento energético (kJ/g)	O_2 consumido (L/g)	CO_2 producido (L/g)	RQ (CO_2 producido/ O_2 consumido)	Energía (kJ)/L O_2
Carbohidrato	16	0.829	0.829	1.00	~20
Proteína	17	0.966	0.782	0.81	~20
Grasa	37	2.016	1.427	0.71	~20
Alcohol	29	1.429	0.966	0.66	~20

por el tejido y se utilizan para la síntesis de triacilglicerol, mientras que el glicerol permanece en el torrente sanguíneo, y es absorbido por el hígado y se usa tanto para la gluconeogénesis como para la síntesis de glucógeno o la lipogénesis. Los ácidos grasos que permanecen en el torrente sanguíneo son absorbidos por el hígado y reesterificados. Los quilomicrones restantes depletados de lípidos son eliminados por el hígado, y el triacilglicerol restante se exporta, junto con el que se sintetiza en el hígado, en las **lipoproteínas de muy baja densidad**.

En condiciones normales, la tasa de catabolismo de las proteínas tisulares es más o menos constante durante el día; sólo en la **caquexia** asociada con el cáncer avanzado y otras enfermedades existe una mayor tasa de catabolismo proteico. Existe un catabolismo neto de proteínas en el estado de ayuno, cuando cae la tasa de síntesis de proteínas y una síntesis neta de proteínas durante la alimentación, cuando la tasa de síntesis aumenta de 20 a 25%. La mayor tasa de síntesis de proteínas en respuesta a una mayor disponibilidad de aminoácidos y combustible metabólico es, otra vez, una respuesta a la insulina. La síntesis de proteínas es un proceso costoso de energía; puede representar hasta 20% del gasto de energía en reposo después de una comida, pero sólo 9% en el estado de ayuno.

Las reservas de combustible metabólico se movilizan en el estado de ayuno

Existe una pequeña caída en la glucosa plasmática en el estado de ayuno, y luego pocos cambios a medida que el ayuno se prolonga hasta la inanición. Los ácidos grasos no esterificados en el plasma aumentan en el ayuno, pero luego se incrementan un poco más en la inanición; como el ayuno es prolongado, la concentración plasmática de los cuerpos cetónicos (el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato) se eleva marcadamente (**cuadro 14-2, figura 14-10**).

En el estado de ayuno, a medida que disminuye la concentración de glucosa en la sangre portal proveniente del intestino delgado, la secreción de insulina decrece, y el músculo esquelético y el tejido adiposo absorben menos glucosa. El incremento de la secreción de **glucagón** por las células α del páncreas inhibe la glucógeno sintasa, y activa la glucógeno fosforilasa en el hígado. La glucosa-6-fosfato resultante es hidrolizada por la glucosa-6-fosfatasa, y la glucosa se libera en el torrente sanguíneo para que sea usada por el cerebro y los eritrocitos.

El glucógeno muscular no puede contribuir directamente a la glucosa en el plasma, debido a que el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa, y el uso principal del glucógeno muscular es proporcionar una fuente de glucosa-6-fosfato para el metabolismo que produce energía en el músculo mismo. Sin embargo, la acetil-CoA formada por la oxidación de los ácidos grasos en el músculo inhibe la piruvato deshidrogenasa, lo que conduce a una acumulación de piruvato. La mayoría de éste es transaminado a alanina, a expensas de los aminoácidos que surgen de la descomposición de la proteína muscular. La alanina, y la mayoría de los cetoácidos resultantes de esta transaminación, se exportan desde el músculo y son absorbidos por el hígado, donde la alanina se transamina para producir el piruvato. Los aminoácidos resultantes se exportan en gran medida a los músculos, para proporcionar grupos amino para la formación de más alanina, mientras que el piruvato proporciona un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado.

En el tejido adiposo, la disminución de la insulina y el aumento del glucagón dan como resultado la inhibición de la lipogénesis, la inactivación e internalización de la lipoproteína lipasa y la activación de la lipasa intracelular sensible a hormona (véase capítulo 25). Esto conduce a la liberación desde el tejido adiposo de mayores cantidades de glicerol (que es un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado) y los ácidos grasos no esterificados, que son utilizados por el hígado, el corazón y el músculo esquelético como su combustible metabólico preferido, por lo que ahorran glucosa.

Aunque el músculo capta y metaboliza preferentemente los ácidos grasos no esterificados en el estado de ayuno, no puede cumplir todos sus requerimientos de energía mediante la betaoxidación. Por el contrario, el hígado tiene una mayor capacidad de betaoxidación, que la necesaria para satisfacer sus propias necesidades de energía, y como el ayuno se vuelve más prolongado, forma más acetil-CoA, que la que puede oxidarse. Esta acetil-CoA se utiliza para sintetizar los **cuerpos cetónicos** (véase capítulo 22), que son los principales combustibles metabólicos para el músculo esquelético y cardiaco, y pueden cubrir hasta 20% de las necesidades energéticas del cerebro. En la inanición prolongada, la glucosa

CUADRO 14-2 Concentraciones plasmáticas de los combustibles metabólicos (mmol/L) durante la alimentación y el ayuno

	Alimentación	40 horas de ayuno	7 días de inanición
Glucosa	5.5	3.6	3.5
Ácidos grasos no esterificados	0.30	1.15	1.19
Cuerpos cetónicos	Insignificante	2.9	4.5

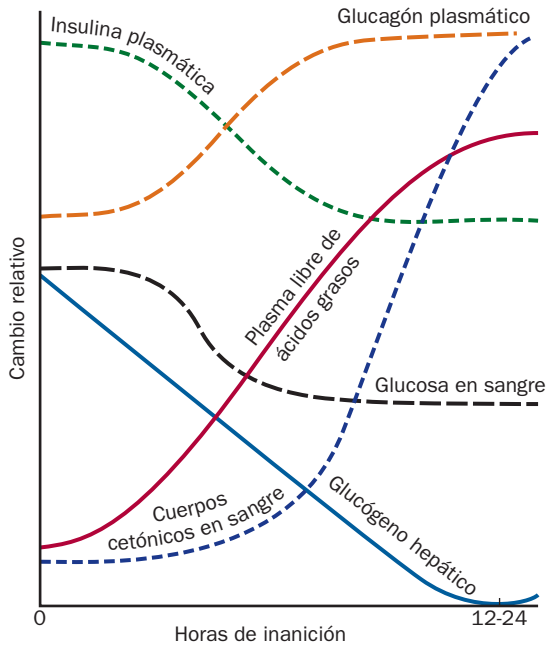


FIGURA 14-10 **Cambios relativos en las hormonas plasmáticas y los combustibles metabólicos durante el inicio de la inanición.**

puede representar menos de 10% del metabolismo que produce energía en todo el cuerpo.

Si no hubiera otra fuente de glucosa, se agotaría el glucógeno hepático y muscular después de casi 18 horas de ayuno. A medida que el ayuno se vuelve más prolongado se utiliza una mayor cantidad de aminoácidos liberados como resultado del catabolismo proteico en el hígado y los riñones para la gluconeogénesis (**cuadro 14-3**).

ASPECTOS CLÍNICOS

En la inanición prolongada, a medida que se agotan las reservas de tejido adiposo hay un aumento muy considerable en la tasa neta de catabolismo proteico para proporcionar aminoácidos, no sólo como sustratos para la gluconeogénesis, sino también como el principal combustible metabólico de todos los tejidos. La muerte se produce cuando las proteínas del tejido esencial se catabolizan y no se reemplazan. En pacientes con **caquexia** como resultado de la liberación de las **citocinas** en respuesta a tumores y enfermedades, hay un aumento en la tasa de catabolismo de proteínas tisulares, así como una tasa metabólica considerablemente mayor, por lo que se encuentran en un estado de inanición avanzada. De nuevo, la muerte se produce cuando las proteínas del tejido esencial se catabolizan y no se reemplazan.

La alta demanda de glucosa por parte del feto, y la síntesis de lactosa en la lactancia, pueden conducir a la cetosis. Esto puede

CUADRO 14-3 **Resumen de las principales características metabólicas de los órganos principales**

Órgano	Principales vías	Sustratos principales	Productos principales exportados	Enzimas especializadas
Hígado	Glucólisis, gluconeogénesis, lipogénesis, betaoxidación, ciclo del ácido cítrico, cetogénesis, metabolismo de lipoproteínas, metabolismo de fármacos, síntesis de sales biliares, urea, ácido úrico, colesterol, proteínas plasmáticas	Ácidos grasos no esterificados, glucosa (durante la alimentación), lactato, glicerol, fructosa, aminoácidos, alcohol	Glucosa, triacilglicerol en VLDL,[a] cuerpos cetónicos, urea, ácido úrico, sales biliares, colesterol, proteínas plasmáticas	Glucocinasa, glucosa-6-fosfatasa, glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa, fructocinasa, arginasa, HMG-CoA sintasa, HMG-CoA liasa, alcohol deshidrogenasa
Cerebro	Glucólisis, ciclo del ácido cítrico, metabolismo de aminoácidos, síntesis de neurotransmisores	Glucosa, aminoácidos, cuerpos cetónicos en la inanición prolongada	Lactato, productos finales del metabolismo de los neurotransmisores	Aquellas para la síntesis y el catabolismo de neurotransmisores
Corazón	Betaoxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, ácidos grasos no esterificados, lactato, quilomicrón y triacilglicerol VLDL, algo de glucosa	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Tejido adiposo	Lipogénesis, esterificación de ácidos grasos, lipólisis (en el ayuno)	Glucosa, quilomicrón y triacilglicerol VLDL	Ácidos grasos no esterificados, glicerol	Lipoproteína lipasa, lipasa sensible a hormonas, enzimas de la vía de la pentosa fosfato
Músculo de contracción rápida	Glucólisis	Glucosa, glucógeno	Lactato, (alanina y cetoácidos en el ayuno)	—
Músculo de contracción lenta	Betaoxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, quilomicrón y triacilglicerol VLDL	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Riñón	Gluconeogénesis	Ácidos grasos no esterificados, lactato, glicerol, glucosa	Glucosa	Glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa
Eritrocitos	Glucólisis anaeróbica, vía de la pentosa fosfato	Glucosa	Lactato	Hemoglobina, enzimas de la vía de la pentosa fosfato

[a] Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL).

verse como cetosis leve con hipoglucemia en los seres humanos; en el ganado lactante y en las ovejas que llevan un embarazo gemelar, puede haber una cetoacidosis muy pronunciada y una hipoglucemia profunda.

En la **diabetes mellitus** tipo 1 mal controlada, los pacientes pueden volverse hiperglucémicos, por la falta de insulina para estimular el consumo y la utilización de glucosa o porque en ausencia de insulina para antagonizar las acciones del glucagón, aumenta la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos en el hígado. Al mismo tiempo, la falta de insulina para antagonizar las acciones del glucagón da como resultado un incremento de la lipólisis en el tejido adiposo, y los ácidos grasos no esterificados resultantes son sustratos para la cetogénesis en el hígado.

La utilización de los cuerpos cetónicos en el músculo (y otros tejidos) puede estar alterada debido a la falta de oxalacetato (todos los tejidos requieren de metabolismo de la glucosa para mantener una cantidad adecuada de oxalacetato para la acción del ciclo del ácido cítrico). En la diabetes no controlada, la cetosis puede ser tan grave que podría provocar una acidosis pronunciada (la **cetoacidosis**); el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son ácidos relativamente fuertes. El resultado del coma es tanto de la acidosis, como del aumento considerable de la osmolalidad del líquido extracelular (sobre todo como consecuencia de la hiperglucemia y la diuresis resultante de la excreción de la glucosa y los cuerpos cetónicos en la orina).

RESUMEN

- Los productos de la digestión proveen a los tejidos con los bloques de construcción para la biosíntesis de las moléculas complejas y también con el combustible para los procesos metabólicos.
- Casi todos los productos de la digestión de los carbohidratos, las grasas y las proteínas se metabolizan a un metabolito común, la acetil-CoA, antes de la oxidación a CO_2 en el ciclo del ácido cítrico.
- La acetil-CoA también es el precursor de la síntesis de los ácidos grasos de cadena larga y los esteroides (incluido el colesterol) y los cuerpos cetónicos.
- La glucosa proporciona esqueletos de carbono para el glicerol de los triacilgliceroles y los aminoácidos no esenciales.
- Los productos de digestión solubles en agua se transportan directamente al hígado a través de la vena porta hepática. El hígado regula las concentraciones de la glucosa y los aminoácidos disponibles para otros tejidos. Los lípidos y los productos liposolubles de la digestión entran al torrente sanguíneo desde el sistema linfático, y el hígado elimina los restos después de que los tejidos extrahepáticos hayan absorbido los ácidos grasos.
- Las vías están compartimentadas dentro de la célula. La glucólisis, la glucogénesis, la glucogenólisis, la vía de la pentosa fosfato y la lipogénesis ocurren en el citosol. Las mitocondrias contienen las enzimas del ciclo del ácido cítrico y la betaoxidación de los ácidos grasos, así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa. Las membranas del retículo endoplasmático contienen las enzimas para otros procesos, incluida la síntesis del triacilglicerol y el metabolismo de los fármacos.
- Las vías metabólicas están reguladas por mecanismos rápidos que afectan la acción de las enzimas existentes, es decir, la modificación alostérica y covalente (a menudo en respuesta a la acción de la hormona) y los mecanismos lentos que afectan la síntesis de enzimas.
- Los carbohidratos y los aminoácidos en exceso en la dieta pueden usarse para la síntesis de los ácidos grasos y, por tanto, del triacilglicerol.
- En el ayuno y en la inanición se debe administrar glucosa para el cerebro y los glóbulos rojos; en el estado de ayuno temprano, esto es provisto por las reservas de glucógeno. Para ahorrar glucosa, el músculo y otros tejidos no absorben glucosa cuando la secreción de insulina es baja; utilizan ácidos grasos (y cuerpos cetónicos posteriores) como su combustible preferido.
- El tejido adiposo libera ácidos grasos no esterificados durante el ayuno. En el ayuno prolongado y la inanición, éstos son utilizados por el hígado para la síntesis de los cuerpos cetónicos, que se exportan para proporcionar el combustible principal para el músculo.
- La mayoría de los aminoácidos, que surgen de la dieta o del recambio de proteínas en los tejidos, se pueden usar para la gluconeogénesis, al igual que el glicerol del triacilglicerol.
- Ni los ácidos grasos, que surgen de la dieta, ni a partir de la lipólisis del tejido adiposo triacilglicerol, ni los cuerpos cetónicos, formados a partir de los ácidos grasos en el ayuno, pueden proporcionar sustratos para la gluconeogénesis.

CAPÍTULO

15

Carbohidratos de importancia fisiológica

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar qué se entiende por glucoma, glucobiología y ciencia glucómica.
- Explicar qué se entiende por los términos monosacárido, disacárido, oligosacárido y polisacárido.
- Explicar las diferentes formas en que se pueden representar las estructuras de la glucosa y otros monosacáridos, y describir los diversos tipos de isomerismo de los azúcares y las estructuras del anillo de la piranosa y la furanosa.
- Describir la formación de glucósidos y las estructuras de disacáridos y polisacáridos importantes.
- Explicar qué significa el índice glucémico de un carbohidrato.
- Describir las funciones de los carbohidratos en las membranas celulares y las lipoproteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los carbohidratos se distribuyen ampliamente en las plantas y los animales; tienen funciones estructurales y metabólicas importantes. En las plantas, la glucosa se sintetiza a partir del dióxido de carbono y el agua mediante la fotosíntesis y se almacena como almidón o se usa para sintetizar la celulosa de las paredes celulares de la planta. Los animales pueden sintetizar los carbohidratos a partir de aminoácidos, pero la mayoría se derivan en última instancia de las plantas. La **glucosa** es el carbohidrato más importante; la mayoría de los carbohidratos de la dieta se absorben hacia el torrente sanguíneo en forma de glucosa formada por la hidrólisis del almidón dietético y los disacáridos, y otros azúcares se convierten en glucosa en el hígado. La glucosa es el principal combustible metabólico de los mamíferos (excepto los rumiantes) y un combustible universal del feto. Es el precursor de la síntesis de todos los demás carbohidratos en el cuerpo, incluyendo el **glucógeno** para el almacenamiento, la **ribosa** y la **desoxirribosa** en los ácidos nucleicos, la **galactosa** para la síntesis de lactosa en la leche, en glucolípidos y en combinación con proteínas en glucoproteínas (véase capítulo 46) y los proteoglucanos. Las enfermedades asociadas con el metabolismo de los carbohidratos incluyen la **diabetes mellitus**, la **galactosemia**, las **enfermedades por almacenamiento de glucógeno** y la **intolerancia a la lactosa**.

La **glucobiología** es el estudio de las funciones de los azúcares en la salud y la enfermedad. El **glucoma** es el complemento completo de azúcares de un organismo, ya sea libre o en moléculas más complejas. La **glucómica**, un término análogo a la genómica y a la proteómica, es el estudio integral de los glucomas, incluidos los aspectos genéticos, fisiológicos, patológicos y de otro tipo.

Se puede formar una gran cantidad de enlaces glucosídicos entre los azúcares. Por ejemplo, tres hexosas diferentes pueden estar enlazadas entre sí para formar más de 1 000 trisacáridos diferentes. Las conformaciones de los azúcares en las cadenas de oligosacáridos varían dependiendo de sus enlaces y la proximidad a otras moléculas, con las que los oligosacáridos pueden interactuar. Las cadenas de oligosacáridos codifican la **información biológica** que depende de sus azúcares, secuencias y enlaces constituyentes.

LOS CARBOHIDRATOS SON ALDEHÍDOS O CETONAS DERIVADOS DE ALCOHOLES POLIHÍDRICOS

Los carbohidratos se clasifican de la siguiente manera:

1. Los **monosacáridos** son aquellos azúcares que no pueden ser hidrolizados en carbohidratos más simples. Ellos pueden ser clasificados como **triosas**, **tetrosas**, **pentosas**, **hexosas** o **heptosas**, dependiendo del número de átomos de carbono (3-7), y como **aldosas o cetosas**, dependiendo de si tienen un grupo aldehído o un grupo cetona. Los ejemplos se enumeran en el **cuadro 15-1**. Además de los aldehídos y las cetonas, los alcoholes polihídricos (alcoholes azúcares o **polioles**), en los que el grupo aldehído o el grupo cetona se ha reducido a

CUADRO 15-1 Clasificación de azúcares importantes

	Aldosas	Cetosas
Triosas ($C_3H_6O_3$)	Glucerosa (gluceraldehído)	Dihidroxiacetona
Tetrosas ($C_4H_8O_4$)	Eritrosa	Eritrulosa
Pentosas ($C_5H_{10}O_5$)	Ribosa	Ribulosa
Hexosas ($C_6H_{12}O_6$)	Glucosa, galactosa, manosa	Fructosa
Heptosas ($C_7H_{14}O_7$)	—	Sedoheptulosa

un grupo alcohol, también se producen naturalmente en los alimentos. Se sintetizan mediante la reducción de monosacáridos para su uso en la elaboración de alimentos para la reducción de peso y para diabéticos. No se absorben bien y tienen aproximadamente la mitad del rendimiento energético de los azúcares.

2. Los **disacáridos** son productos de la condensación de dos unidades de monosacáridos, por ejemplo, la lactosa, la maltosa, la isomaltosa, la sacarosa y la trehalosa.

3. Los **oligosacáridos** son productos de la condensación de 3 a 10 monosacáridos. La mayoría no son digeridos por las enzimas humanas.

4. Los **polisacáridos** son productos de la condensación de más de 10 unidades de monosacáridos; ejemplos son los almidones y las dextrinas, que pueden ser polímeros lineales o ramificados. Los polisacáridos a veces se clasifican como hexosanos o pentosanos, dependiendo de los monosacáridos constituyentes (las hexosas o las pentosas, respectivamente). Además de los almidones y las dextrinas (que son hexosanos), los alimentos contienen una amplia variedad de otros polisacáridos, que se conocen colectivamente como polisacáridos sin almidón; ellos no son digeridos por las enzimas humanas, y son el componente principal de la fibra dietética. Los ejemplos son la celulosa de las paredes celulares de las plantas (un polímero de glucosa, véase figura 15-13) y la inulina, el almacenamiento de carbohidrato en algunas plantas (un polímero de fructosa, véase figura 15-13).

BIOMÉDICAMENTE, LA GLUCOSA ES EL MONOSACÁRIDO MÁS IMPORTANTE

La estructura de la glucosa se puede representar de tres formas

La fórmula estructural de la cadena lineal (la aldohexosa, **figura 15-1A**) puede explicar algunas de las propiedades de la glucosa, pero una estructura cíclica (un **hemiacetal** formado por la reacción entre un grupo aldehído y un grupo hidroxilo) se favorece termodinámicamente y justifica otras propiedades. La estructura cíclica se dibuja como se muestra en la **figura 15-1B**, la proyección de Haworth, en la que la molécula se ve desde el lado y sobre el plano del anillo; los enlaces más cercanos al espectador están en negrita

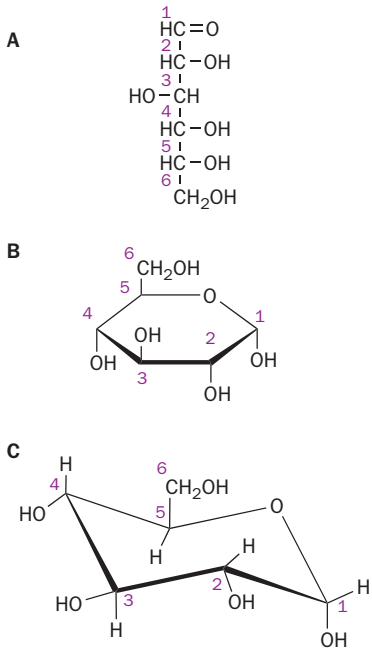


FIGURA 15-1 D-Glucosa. A) Forma de cadena recta. **B)** α-D-glucosa; proyección de Haworth. **C)** α-D-glucosa; forma de silla.

y engrosados, y los grupos hidroxilo están por encima o por debajo del plano del anillo. Los átomos de hidrógeno unidos a cada carbono no se muestran en esta figura. El anillo tiene realmente la forma de una silla (**figura 15-1C**).

Los azúcares exhiben diversas formas de isomerismo

La glucosa, con cuatro átomos de carbono asimétricos, puede formar 16 isómeros. Los tipos más importantes de isomerismo encontrados con la glucosa son los siguientes:

1. **Isomerismo D y L**: la designación de un isómero de azúcar como la forma D o su imagen especular como la forma L se determina por su relación espacial con el compuesto original de los carbohidratos, el azúcar glucerosa de tres carbonos (el gluceraldehído). Las formas L y D de este azúcar y de la glucosa se muestran en la **figura 15-2**. La orientación de los grupos —H y —OH alrededor del átomo de carbono adyacente al carbono del alcohol terminal (carbono 5 en glucosa) determina, si el azúcar pertenece a la serie D o L. Cuando el grupo —OH en este carbono está a la derecha (como se observa en la figura 15-2), el azúcar es el isómero D; cuando está a la izquierda, es el isómero L. La mayoría de los monosacáridos naturales son D azúcares, y las enzimas responsables de su metabolismo son específicas para esta configuración.

2. La presencia de átomos de carbono asimétricos también confiere **actividad óptica** en el compuesto. Cuando un haz de luz polarizada en el plano pasa a través de una solución de un **isómero óptico**, éste gira a la derecha, dextrorrotatorio (+), o hacia la izquierda, levorrotatorio (–). La dirección de rotación de la luz polarizada es independiente de la estereoquímica del

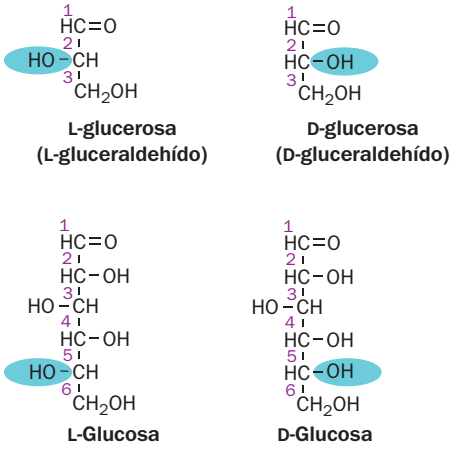


FIGURA 15-2 **Isomerismo D y L de la glucerosa y la glucosa.**

azúcar, por lo que puede designarse D(–), D(+), L(–) o L(+). Por ejemplo, la forma natural de la fructosa es el isómero D (–). Confusamente, el dextrorrotatorio (+) al mismo tiempo se llamaba d–, y el levorrotatorio (–) 1-. Esta nomenclatura está obsoleta, pero a veces se puede encontrar; no está relacionada con el isomerismo D y L. En una solución, la glucosa es dextrorrotatoria y las soluciones de glucosa a veces se conocen como **dextrosa**.

3. **Estructuras del anillo de la piranosa y la furanosa**: las estructuras de anillo de los monosacáridos son similares a las estructuras de anillo de cualquier pirano (un anillo de seis miembros) o furano (un anillo de cinco miembros) (**figuras 15-3** y **15-4**). Para la glucosa en solución, más del 99% está en forma de piranosa.

4. **Anómeros alfa y beta**: la estructura del anillo de una aldosa es un hemiacetal, ya que se forma por reacción entre un aldehído y un grupo alcohol. Del mismo modo, la estructura de anillo de una cetosa es un hemiacetal. La glucosa cristalina es α-D-glucopiranosa. La estructura cíclica se retiene en la solución, pero el isomerismo se produce alrededor de la posición 1, el carbonilo o **átomo de carbono anomérico**, para dar una mezcla de alfaglucopiranosa (38%) y betaglucopiranosa (62%). Menos del 0.3% está representado por anómeros α y β de glucofuranosa.

5. **Epímeros**: los isómeros que difieren como resultado de las variaciones en la configuración de —OH y —H en los átomos de carbono 2, 3 y 4 de la glucosa se conocen como epímeros. Biológicamente, los epímeros más importantes de la glucosa son la manosa (epimerizada en el carbono 2) y la galactosa (epimerizada en el carbono 4) (**figura 15-5**).

6. **Isomerismo de la aldosa-cetosa**: la fructosa tiene la misma fórmula molecular de la glucosa, pero difiere en que hay un potencial grupo ceto en la posición 2, el carbono anomérico de la fructosa, mientras que en la glucosa hay un potencial grupo aldehído en la posición 1, el carbono anomérico. Los ejemplos de azúcares de aldosa y cetosa se muestran en las **figuras 15-6** y **15-7**, respectivamente. En el aspecto químico, las aldosas son compuestos reductores, y algunas veces se conocen como azúcares reductores. Esto proporciona la base para una prueba química simple para la glucosa en la orina en la diabetes mellitus mal controlada, mediante la reducción de una solución de cobre alcalino (véase capítulo 48).

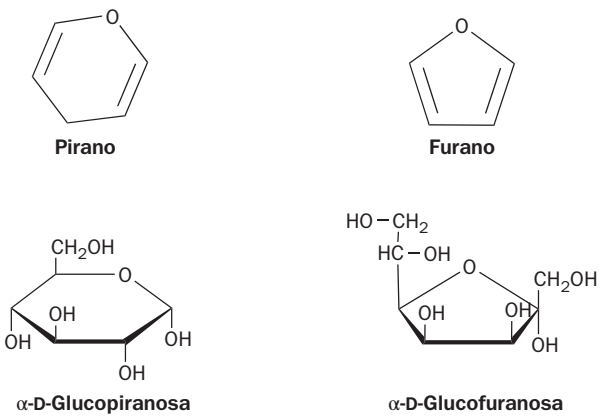


FIGURA 15-3 **Formas piranosa y furanosa de la glucosa.**

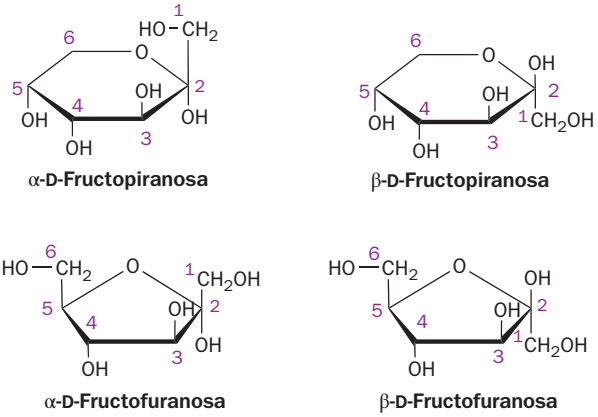


FIGURA 15-4 **Formas piranosa y furanosa de la fructosa.**

Muchos monosacáridos son fisiológicamente importantes

Los derivados de triosas, tetrosas y pentosas y de la sedoheptulosa de siete carbonos se forman como intermedios metabólicos en la glucólisis (véase capítulo 17) y en la vía de la pentosa fosfato (véase capítulo 20). Las pentosas son importantes en los nucleótidos, los ácidos nucleicos y en varias coenzimas (**cuadro 15-2**). La glucosa, la galactosa, la fructosa y la manosa son fisiológicamente las hexosas más importantes (**cuadro 15-3**). Las aldosas bioquímicamente importantes se muestran en la figura 15-6 y las cetosas en la figura 15-7.

Además, los derivados del ácido carboxílico de la glucosa son importantes, incluyendo al D-glucuronato (para la formación de glucurónidos y en los glucosaminoglicanos), su derivado metabólico, el L-iduronato (en los glucosaminoglicanos, **figura 15-8**) y el L-gulonato (un intermediario en la vía del ácido urónico; véase figura 20-4).

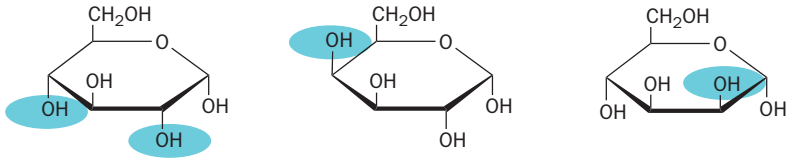


FIGURA 15-5 Epímeros de la glucosa.

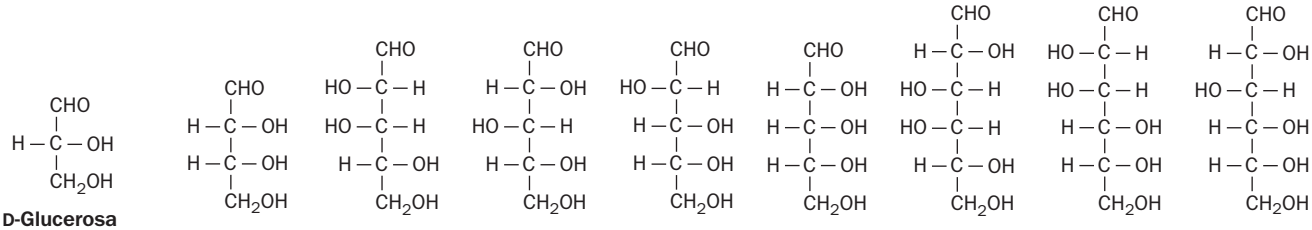


FIGURA 15-6 Ejemplos de aldosas de importancia fisiológica.

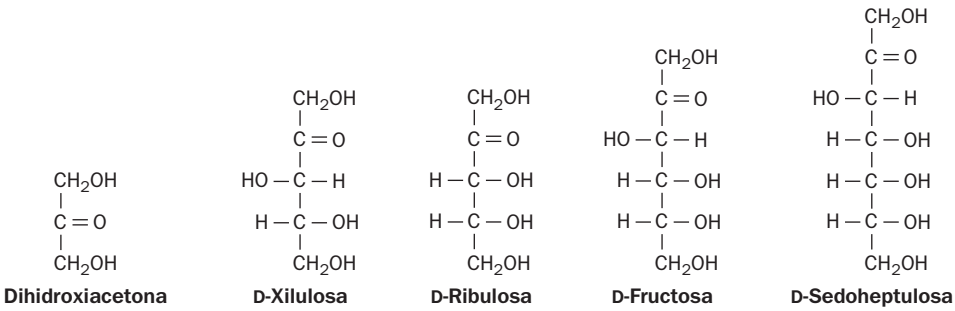


FIGURA 15-7 Ejemplos de cetosas de importancia fisiológica.

CUADRO 15-2 Pentosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica y clínica
D-Ribosa	Ácidos nucleicos e intermediario metabólico	Componente estructural de ácidos nucleicos y coenzimas, incluyendo ATP, NAD(P) y coenzimas flavinas
D-Ribulosa	Intermediario metabólico	Intermediario en la vía de la pentosa fosfato
D-Arabinosa	Resinas vegetales	Constituyente de glucoproteínas
D-Xilosa	Resinas vegetales, proteoglicanos, glucosaminoglicanos	Constituyente de glucoproteínas
L-Xilulosa	Intermediario metabólico	Excretado en la orina en la pentosuria esencial

CUADRO 15-3 Hexosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica	Significación clínica
D-Glucosa	Zumos de fruta, hidrólisis de almidón, azúcar de caña o de remolacha, maltosa y lactosa	El principal combustible metabólico para los tejidos; "azúcar en sangre"	Se excreta en la orina (glucosuria) en la diabetes mellitus mal controlada como resultado de la hiperglucemia
D-Fructosa	Zumos de frutas, miel, hidrólisis de azúcar de caña o de remolacha e inulina, isomerización enzimática de jarabes de glucosa para la fabricación de alimentos	Fácilmente metabolizado ya sea por la vía de la glucosa o directamente	La intolerancia hereditaria a la fructosa conduce a la acumulación de fructosa y a la hipoglucemia
D-Galactosa	Hidrólisis de lactosa	Fácilmente metabolizado a glucosa; sintetizado en la glándula mamaria para la síntesis de lactosa en leche. Un constituyente de glucolípidos y glucoproteínas	La galactosemia hereditaria como resultado de la incapacidad de metabolizar galactosa provoca cataratas
D-Manosa	Hidrólisis de las resinas de la planta manano	Constituyente de glucoproteínas	

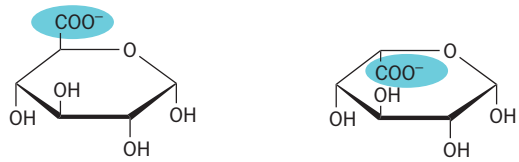


FIGURA 15-8 **α-D-Glucuronato (a la izquierda) y β-L-iduronato (a la derecha).**

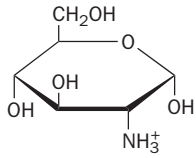


FIGURA 15-10 **Glucosamina (2-amino-D-glucopiranosa) (forma α).** La galactosamina es 2-amino-D-galactopiranosa. Tanto la glucosamina como la galactosamina aparecen como derivados de *N*-acetilo en los carbohidratos complejos, por ejemplo, las glucoproteínas.

Los azúcares forman glucósidos con otros compuestos y entre sí

Los **glucósidos** se forman por la condensación entre el grupo hidroxilo del carbono anomérico de un monosacárido, y un segundo compuesto, que puede ser otro monosacárido o, en el caso de un **aglucona**, no un azúcar. Si el segundo grupo es también un hidroxilo, el *O*-glucosídico unido es un enlace acetal porque es el resultado de una reacción entre un grupo hemiacetal (formado a partir de un aldehído y un grupo —OH) y otro grupo —OH. Si la porción de hemiacetal es glucosa, el compuesto resultante es un **glucósido**; si es galactosa, un **galactósido**, y así sucesivamente. Si el segundo grupo es una amina, se forma un enlace *N*-glucosídico, por ejemplo, entre la adenina y la ribosa en nucleótidos como el ATP (véase figura 11-4).

Los glucósidos están ampliamente distribuidos en la naturaleza; el aglucona puede ser metanol, glicerol, un esterol, un fenol, o una base tal como la adenina. Los glucósidos que son importantes en la medicina debido a su acción sobre el corazón (los **glucósidos cardiacos**) contienen esteroides como el aglucona. Éstos incluyen derivados digitales y *strophanthus* tales como la **ouabaína**, un inhibidor de la Na^+-K^+-ATPasa de las membranas celulares. Otros glucósidos incluyen antibióticos tales como la **estreptomicina**.

Los desoxiazúcares carecen de un átomo de oxígeno

Los desoxiazúcares son aquellos en los que un grupo hidroxilo ha sido reemplazado por el hidrógeno. Un ejemplo es la **desoxirribosa** (**figura 15-9**) en el DNA. El azúcar desoxidable L-fucosa (véase figura 15-15) ocurre en las glucoproteínas; la 2-desoxiglucosa se usa como un inhibidor del metabolismo de la glucosa.

Las aminoazúcares (hexosaminas) son componentes de las glucoproteínas, los gangliósidos y los glucosaminoglucanos

Los aminoazúcares incluyen la D-glucosamina, un constituyente del ácido hialurónico (**figura 15-10**), la D-galactosamina (también conocida como la condrosamina), un constituyente de la condroitina y la D-manosamina. Varios **antibióticos** (p. ej., la **eritromicina**) contienen aminoazúcares, que son importantes para su actividad antibiótica.

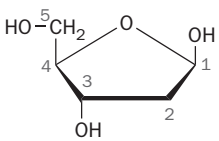


FIGURA 15-9 **2-Desoxi-D-ribofuranosa (forma β).**

La maltosa, la sacarosa y la lactosa son importantes disacáridos

Los disacáridos son azúcares compuestos de dos monosacáridos residuales unidos por un enlace glucosídico (**figura 15-11**). Los disacáridos fisiológicamente importantes son la maltosa, la sacarosa y la lactosa (**cuadro 15-4**). La hidrólisis de la sacarosa produce una mezcla de glucosa y fructosa llamada "azúcar invertido" porque la fructosa es fuertemente levorrotatoria y cambia (invierte) la acción dextrorrotatoria más débil de la sacarosa.

LOS POLISACÁRIDOS SIRVEN DE ALMACENAMIENTO Y PARA FUNCIONES ESTRUCTURALES

Los polisacáridos incluyen una cantidad de carbohidratos fisiológicamente importantes.

El **almidón** es un homopolímero de glucosa que forma una cadena α-glucosídica, llamada **glucosano** o **glucano**. Es el carbohidrato dietético más importante en los cereales, papas, legumbres y otros vegetales. Los dos constituyentes principales son la **amilosa** (13-20%), que tiene una estructura helicoidal no ramificada, y la **amilopectina** (80-87%), que consiste en cadenas ramificadas, consta de 24 a 30 residuos de glucosa con enlaces α1 → 4 en las cadenas y por enlaces α1 → 6 en los puntos de ramificación (**figura 15-12**).

La extensión en la que el almidón en los alimentos es hidrolizado por la amilasa está determinada por su estructura, el grado de cristalización o hidratación (resultado de la cocción), y si está encerrada en las paredes de las células vegetales intactas (e indigeribles). El **índice glucémico** de un alimento con almidón es una medida de su digestibilidad, en función del grado en que aumenta la concentración sanguínea de glucosa, en comparación con una cantidad equivalente de glucosa, o un alimento de referencia como el pan blanco o el arroz hervido. El índice glucémico varía de 1 (o 100%) para los almidones que se hidrolizan fácilmente en el intestino delgado a 0 para aquellos que no se hidrolizan en absoluto.

El **glucógeno** es el polisacárido de almacenamiento en los animales, y algunas veces se le denomina almidón animal. Es una estructura más altamente ramificada que la amilopectina, con cadenas de 12 a 15 residuos de α-D-glucopiranosa (en enlaces glucosídicos α1 → 4) con ramificación mediante enlaces glucosídicos α1 → 6. Los gránulos de glucógeno muscular (betapartículas) son esféricos y contienen hasta 60 000 residuos de glucosa; en el

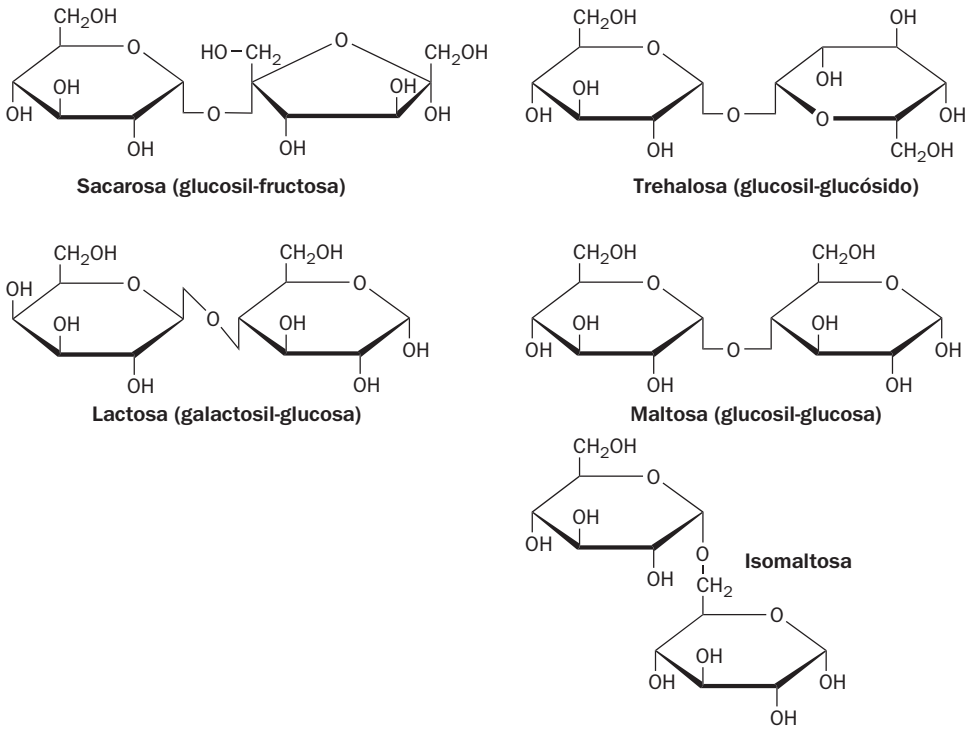


FIGURA 15-11 **Estructuras de los disacáridos nutricionalmente importantes.**

hígado hay gránulos similares y también rosetas de gránulos de glucógeno que parecen ser betapartículas agregadas.

La **inulina** es un polisacárido de fructosa (un fructosano) que se encuentra en los tubérculos y las raíces de las dalias, las alcachofas y los dientes de león. Es fácilmente soluble en agua y se utiliza para determinar la tasa de filtración glomerular, pero no es hidrolizada por las enzimas intestinales, por lo que no tiene ningún valor nutricional. Las **dextrinas** son productos intermedios en la hidrólisis del almidón. La **celulosa** es el constituyente principal de las paredes celulares de las plantas. Es insoluble y consiste en unidades de β-D-glucopiranosa unidas por enlaces β1 → 4 para formar cadenas largas y rectas reforzadas por enlaces cruzados de enlaces de hidrógeno. Los mamíferos carecen de cualquier enzima que hidrolice los enlaces β1 → 4, por lo que no pueden digerir la celulosa. Es el componente principal de la fibra dietética. Los microorganismos en el intestino de los rumiantes y otros herbívoros pueden hidrolizar el enlace y fermentar los productos a los ácidos grasos de cadena corta como fuente principal de energía. Existe algo de metabolismo bacteriano de la celulosa en el colon humano. La **quitina** es un polisacárido estructural en el exoesqueleto de los crustáceos y los insectos, y también en los hongos. Consiste en unidades de *N*-acetil-D-glucosamina unidas

CUADRO 15-4 **Disacáridos de importancia fisiológica**

Azúcar	Composición	Fuente	Significación clínica
Sacarosa	O-α-D-glucopiranosil-(1 → 2)-β-D-fructofuranosida	Azúcar de caña y remolacha, sorgo y algunas frutas y verduras	La deficiencia genética poco frecuente de la sacarasa conduce a la intolerancia a la sacarosa: diarrea y flatulencia
Lactosa	O-β-D-galactopiranosil-(1 → 4)-β-D-glucopiranosa	Leche (y muchas preparaciones farmacéuticas como relleno)	La deficiencia de lactasa (alactasia) produce intolerancia a la lactosa: diarrea y flatulencia; puede excretarse en la orina durante el embarazo
Maltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1 → 4)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (amilasa); germinación de cereales y malta	
Isomaltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1 → 6)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (los puntos de ramificación en la amilopectina)	
Lactulosa	O-α-D-galactopiranosil-(1 → 4)-β-D-fructofuranosa	Leche calentada (pequeñas cantidades), principalmente sintética	No hidrolizado por enzimas intestinales, pero fermentado por bacterias intestinales; usado como laxante osmótico suave
Trehalosa	O-α-D-glucopiranosil-(1 → 1)-α-D-glucopiranósido	Levaduras y hongos; el azúcar principal de la hemolinfa de insectos	

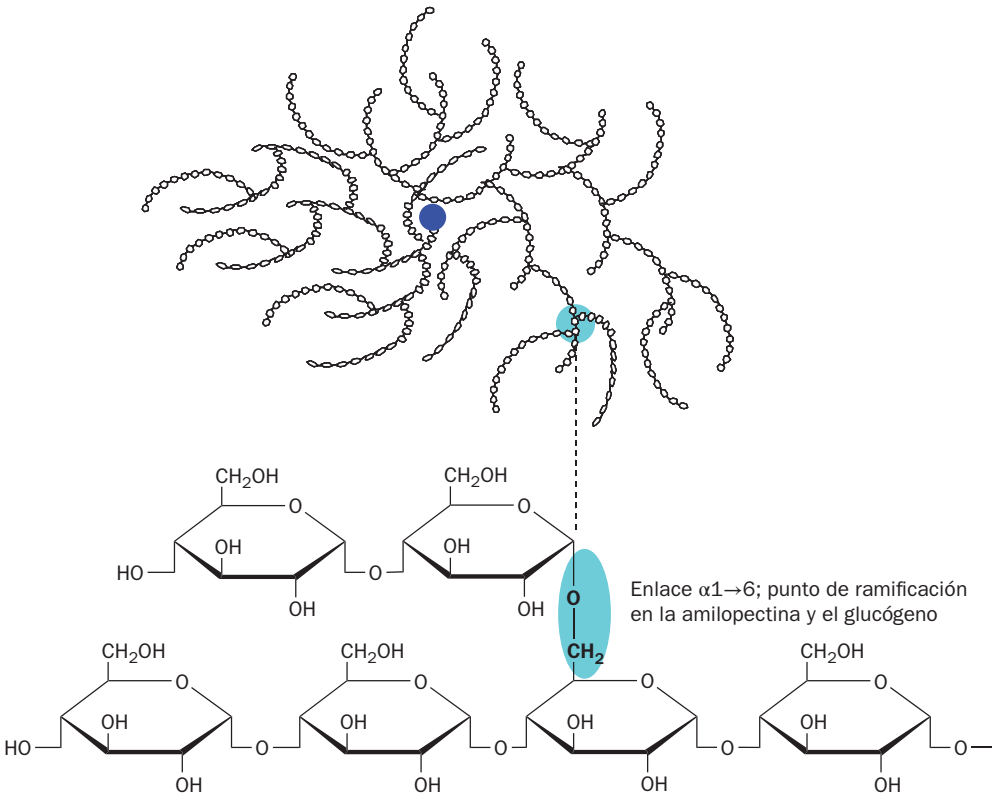


FIGURA 15-12 **La estructura del almidón y el glucógeno.** La amilosa es un polímero lineal de residuos de glucosa enlazados por α1 → 4, que se enrollan en una hélice. La amilopectina y el glucógeno consisten en cadenas cortas de residuos de glucosa unidas con α1 → 4 con puntos de ramificación formados por enlaces glucosídicos α1 → 6. La molécula de glucógeno es una esfera de ~21 nm de diámetro, que se puede ver en las micrografías electrónicas. Tiene una masa molecular de ~10^7 Da y consiste en cadenas de polisacáridos que contienen cada una aproximadamente 13 residuos de glucosa. Las cadenas son ramificadas o no ramificadas y están dispuestas en 12 capas concéntricas. Las cadenas ramificadas (cada una tiene dos ramas) se encuentran en las capas internas y las cadenas no ramificadas en la capa más externa. El punto azul en el centro de la molécula de glucógeno es la glucogenina, la primera molécula para la síntesis de glucógeno.

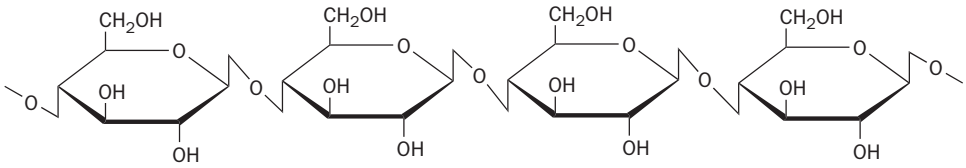
por enlaces glucosídicos β1 → 4. La **pectina** se halla en las frutas; es un polímero α1 → 4 enlazado al ácido galacturónico, con algunas ramas de galactosa y arabinosa, y está parcialmente metilado (**figura 15-13**).

Los **glucosaminoglucanos** (mucopolisacáridos) son carbohidratos complejos que contienen **aminoazúcares** y ácidos urónicos. Pueden estar unidos a una molécula de proteína para formar un **proteoglucano**. Los proteoglicanos proporcionan el suelo o la sustancia de relleno del tejido conectivo (véase capítulo 50). Mantienen grandes cantidades de agua y ocupan espacio, amortiguando o lubricando otras estructuras, debido a la gran cantidad de grupos OH y las cargas negativas sobre la molécula, que, por repulsión, mantienen separadas las cadenas de los carbohidratos. Algunos ejemplos son el **ácido hialurónico**, el **sulfato de condroitina** y la heparina (**figura 15-14**).

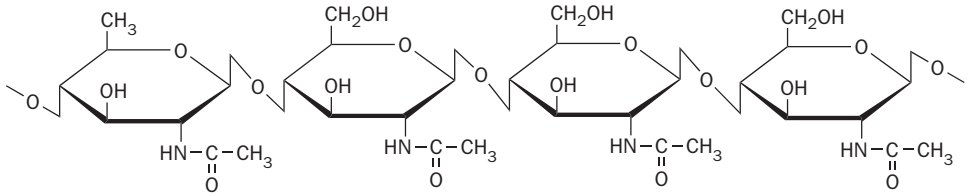
Las **glucoproteínas** (también conocidas como mucoproteínas) son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos ramificadas o no ramificadas (**cuadro 15-5**), **incluida la fucosa** (**figura 15-15**). Ocurren en las membranas celulares (véanse capítulos 40 y 46) y muchas proteínas están glucosiladas. Los **ácidos siálicos** son derivados de *N*- u *O*-acilo del ácido neuramínico (figura 15-15). El **ácido neuramínico** es un azúcar de nueve carbonos derivado de la manosamina (un epímero de la glucosamina) y el piruvato. Los ácidos siálicos son constituyentes de las **glucoproteínas** y los **gangliósidos**.

CARBOHIDRATOS QUE SE PRODUCEN EN LAS MEMBRANAS CELULARES Y EN LAS LIPOPROTEÍNAS

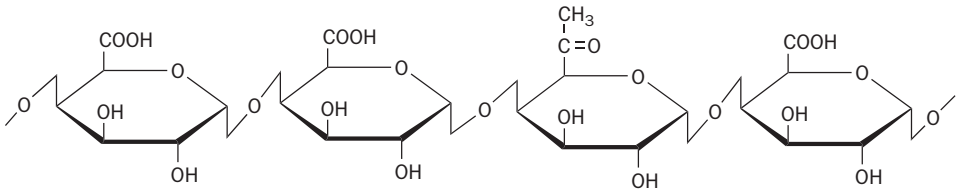
Aproximadamente 5% del peso de las membranas celulares es la parte de los carbohidratos de las glucoproteínas (véase capítulo 46) y los glucolípidos. Su presencia en la superficie externa de la membrana plasmática (el **glucocálix**) se ha demostrado con el uso de las **lectinas** de las plantas, las proteínas que se unen a residuos de glucosilo específicos. Por ejemplo, la **concanavalina A** se une a los residuos de alfaglucosilo y alfamanosilo. La **glucoforina** es una importante glucoproteína de la membrana integral de los eritrocitos humanos. Tiene 130 residuos de aminoácidos y abarca la membrana lipídica, con regiones polipeptídicas fuera de las superficies



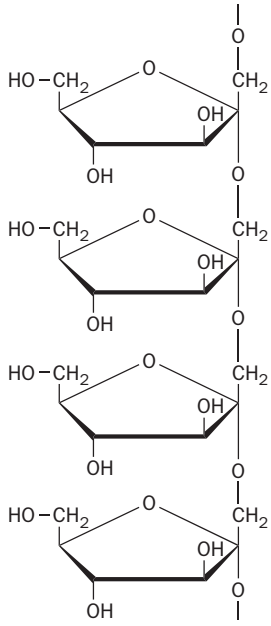
Celulosa: polímero de glucosa enlazado a β1→4



Citina: polímero *N*-acetilglucosamina enlazado a β1→4



Pectina: el polímero de ácido galacturónico enlazado a 1→4, parcialmente metilado; algunas ramas de galactosa y/o arabinosa



Inulina: polímero de fructosa enlazado a β2→1

FIGURA 15-13 **Las estructuras de algunos polisacáridos no amiláceos importantes.**

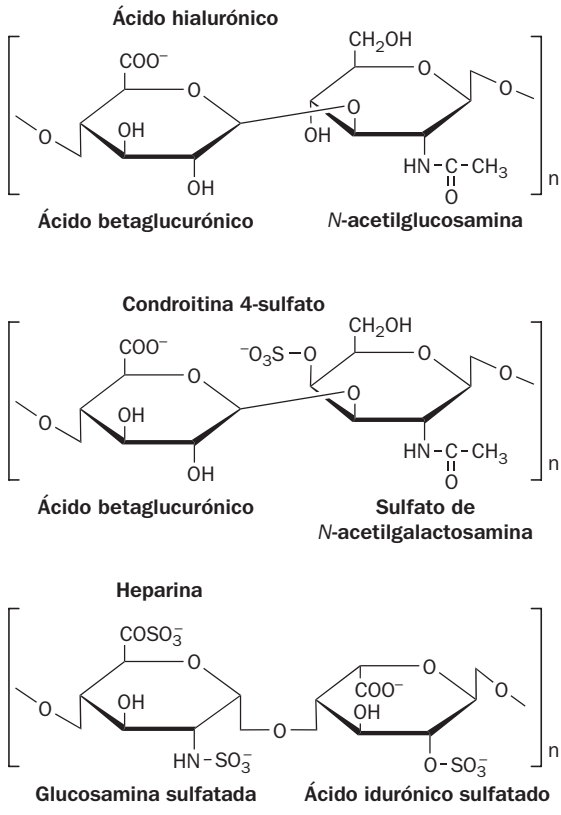


FIGURA 15-14 **Estructura de algunos polisacáridos y glucosaminoglucanos complejos.**

CUADRO 15-5 **Carbohidratos encontrados en las glucoproteínas**

Hexosas	Manosa (Man), Galactosa (Gal)
Acetil hexosaminas	*N*-Acetilglucosamina (GlcNAc), *N*-Acetilgalactosamina (GalNAc)
Pentosas	Arabinosa (Ara), Xilosa (Xyl)
Metil pentosa	L-Fucosa (Fuc, véase figura 15-15)
Ácidos siálicos	Derivados *N*-acilo del ácido neuramínico; el ácido siálico predominante es el ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc, véase figura 15-15)

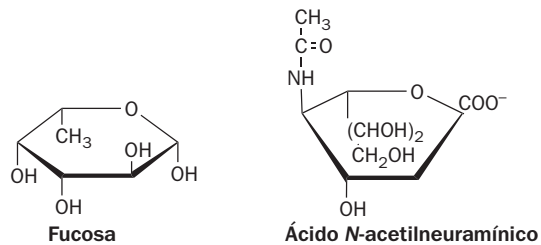


FIGURA 15-15 **β-L-Fucosa (6-deoxi-β-L-galactosa) y el ácido *N*-acetilneuramínico, un ácido siálico.**

externa e interna (citoplásmica). Las cadenas de los carbohidratos están unidas a la porción amino terminal fuera de la superficie externa. Los carbohidratos también están presentes en la apoproteína B de las lipoproteínas del plasma.

RESUMEN

- El glucoma es el complemento completo de azúcares de un organismo, ya sea libre o presente en moléculas más complejas. La glucómica es el estudio de los glucomas, incluidos los aspectos genéticos, fisiológicos, patológicos y de otro tipo.
- Los carbohidratos son los constituyentes principales de alimentos para animales y tejidos animales. Se caracterizan por el tipo y el número de residuos de monosacáridos en sus moléculas.
- La glucosa es el carbohidrato más importante en la bioquímica de los mamíferos porque casi todos los carbohidratos en los alimentos se convierten en glucosa para el metabolismo.
- Los azúcares tienen un gran número de estereoisómeros porque contienen varios átomos de carbono asimétricos.
- Los monosacáridos fisiológicamente importantes incluyen la glucosa, el "azúcar en la sangre", y la ribosa, un constituyente importante de los nucleótidos y los ácidos nucleicos.
- Los disacáridos importantes incluyen la maltosa (glucosil-glucosa), un intermediario en la digestión del almidón; la sacarosa (glucosil-fructosa), importante como constituyente de la dieta que contiene fructosa; y la lactosa (galactosil-glucosa) en la leche.
- El almidón y el glucógeno son polímeros de almacenamiento de la glucosa en las plantas y los animales, respectivamente. El almidón es el principal combustible metabólico en la dieta.
- Los carbohidratos complejos contienen otros derivados de azúcar como los aminoazúcares, los ácidos urónicos y los ácidos siálicos. Incluyen los proteoglicanos y los glucosaminoglicanos, que están asociados con elementos estructurales de los tejidos, y las glucoproteínas, que son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos; se encuentran en muchas ubicaciones, incluida la membrana celular.
- Las cadenas de oligosacáridos codifican información biológica, dependiendo de sus azúcares constituyentes y sus secuencias y enlaces.

CAPÍTULO

16

El ciclo del ácido cítrico: la ruta central del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las reacciones del ciclo del ácido cítrico, y las reacciones que conducen a la producción de equivalentes reductores que se oxidan en la cadena de transporte de las mitocondrias y electrones para producir adenosina ATP.
- Explicar la importancia de las vitaminas en el ciclo del ácido cítrico.
- Explicar cómo el ciclo del ácido cítrico proporciona una ruta para el catabolismo de aminoácidos, y también una ruta para su síntesis.
- Describir las principales vías anapleróticas que permiten la reposición de intermediarios del ciclo del ácido cítrico, y cómo se controla la extracción de oxaloacetato para la gluconeogénesis.
- Describir el papel del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos.
- Explicar cómo la actividad del ciclo del ácido cítrico está controlada por la disponibilidad de cofactores oxidados.
- Explicar cómo la hiperamonemia puede conducir a la pérdida de la conciencia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs o del ácido tricarboxílico) es una secuencia de reacciones en las mitocondrias que oxida el residuo acetil de la acetil-CoA a CO_2, y reduce las coenzimas que se reoxidan a través de la cadena de transporte de electrones (véase capítulo 13), ligadas a la formación de ATP.

El ciclo del ácido cítrico es la vía final común para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas porque la glucosa, los ácidos grasos y la mayoría de los aminoácidos se metabolizan a acetil-CoA o a intermediarios del ciclo. También tiene un papel central en la gluconeogénesis, la lipogénesis y la interconversión de aminoácidos. Muchos de estos procesos ocurren en la mayoría de los tejidos, pero es en el hepático donde todos ocurren de manera significativa. Por tanto, las repercusiones son profundas cuando, por ejemplo, se dañan grandes cantidades de células hepáticas como en la **hepatitis** aguda, o se reemplazan por tejido conjuntivo (como en la **cirrosis**). Los pocos defectos genéticos reportados sobre las enzimas del ciclo del ácido cítrico están asociados con un daño neurológico grave, como resultado de una formación muy deteriorada de ATP en el sistema nervioso central.

La hiperamonemia, como ocurre en la hepatopatía avanzada, conduce a la pérdida de la conciencia, al coma y las convulsiones, como resultado de alteraciones en la actividad en el ciclo del ácido cítrico que conducen a la menor formación de ATP. El amoniaco agota los intermediarios del ácido cítrico (retirando alfacetoglutarato para la formación de glutamato y glutamina), y también inhibe la descarboxilación oxidativa del alfacetoglutarato.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO PROPORCIONA SUSTRATOS PARA LA CADENA RESPIRATORIA

El ciclo comienza con la reacción entre el resto acetilo de la acetil-CoA y el oxaloacetato de ácido dicarboxílico de cuatro carbonos, formando un citrato de ácido tricarboxílico de seis carbonos. En las reacciones subsiguientes se liberan dos moléculas de CO_2, y se regenera el oxaloacetato (**figura 16-1**). Sólo se necesita una pequeña cantidad de oxaloacetato para la oxidación de una gran cantidad de acetil-CoA; se puede considerar que desempeña un **rol catalizador**, ya que se regenera al final del ciclo.

El ciclo del ácido cítrico proporciona la vía principal para la formación del ATP vinculado a la oxidación de los combustibles metabólicos. Durante la oxidación de la acetil-CoA las coenzimas

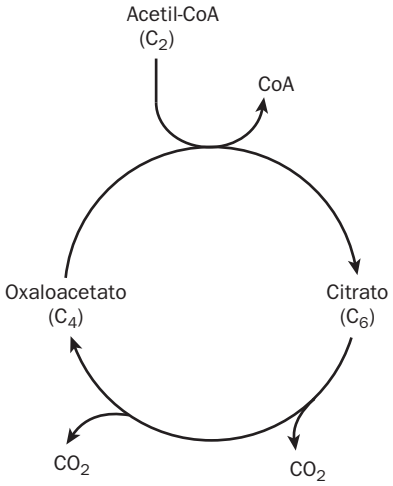


FIGURA 16-1 **El ciclo del ácido cítrico, que ilustra el rol catalítico de oxaloacetato.**

se reducen, y luego se vuelven a oxidar en la cadena respiratoria ligada a la formación de ATP (fosforilación oxidativa, **figura 16-2**; véase también capítulo 13). Este proceso es **aeróbico** y requiere oxígeno como el oxidante final de las coenzimas reducidas. Las enzimas del ciclo del ácido cítrico se ubican en la **matriz mitocondrial**, ya sea libre o unida a la membrana mitocondrial interna y a la cresta mitocondrial, donde también se encuentran las enzimas y las coenzimas de la cadena respiratoria (véase capítulo 13).

LAS REACCIONES DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO PRODUCEN EQUIVALENTES REDUCTORES Y CO_2

La reacción inicial entre el citrato de acetil-CoA y el oxaloacetato para formar citrato está catalizada por la **sintasa citrato**, que forma un enlace carbono-carbono entre el carbono metílico del acetil-CoA y el carbono carbonílico del oxaloacetato (**figura 16-3**). El enlace tioéster de la citril-CoA resultante se hidroliza, liberando citrato y la coenzima CoASH, una reacción exotérmica.

El citrato se isomeriza a isocitrato mediante la enzima **aconitasa** (aconitato hidratasa); la reacción ocurre en dos pasos: deshidratación a *cis*-aconitato y rehidratación a isocitrato. Aunque el citrato es una molécula simétrica, la aconitasa reacciona con el citrato de forma asimétrica, de manera que los dos átomos de carbono que se pierden en las reacciones posteriores del ciclo no son los que se añadieron a partir de la acetil-CoA. Este comportamiento asimétrico es el resultado de la transferencia de **canalización** del producto de citrato sintasa directamente sobre el sitio activo de la aconitasa, sin entrada de solución libre. Esto proporciona la integración de la actividad del ácido cítrico con la provisión de citrato en el citosol, como fuente de acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos. El citrato está disponible en solución libre para ser transportado desde la mitocondria al citosol para la síntesis de ácidos grasos sólo cuando la aconitasa es inhibida por la acumulación de su producto, el isocitrato.

El veneno **fluoroacetato** se encuentra en algunas plantas, y su consumo puede ser fatal para los animales que pastan. Algunos compuestos fluorizados utilizados como agentes anticancerígenos y productos químicos industriales (incluidos los plaguicidas) se metabolizan a fluoroacetato. Es tóxico porque la fluoroacetil-CoA se condensa con oxaloacetato para formar fluorocitrato, que inhibe la aconitasa y hace que el citrato se acumule.

El isocitrato sufre una deshidrogenación, catalizada por la **isocitrato deshidrogenasa**, para formar oxalosuccinato al inicio, que permanece unido a la enzima y se somete a la descarboxilación del alfacetoglutarato. La descarboxilación requiere iones Mg^{2+} o Mn^{2+}. Hay tres isoenzimas de isocitrato deshidrogenasa. Una, que usa el ion dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD^+, *nicotinamide adenine dinucleotide*), se encuentra sólo en las mitocondrias. Las otras dos usan el $NADP^+$ y se localizan en las mitocondrias y el citosol.

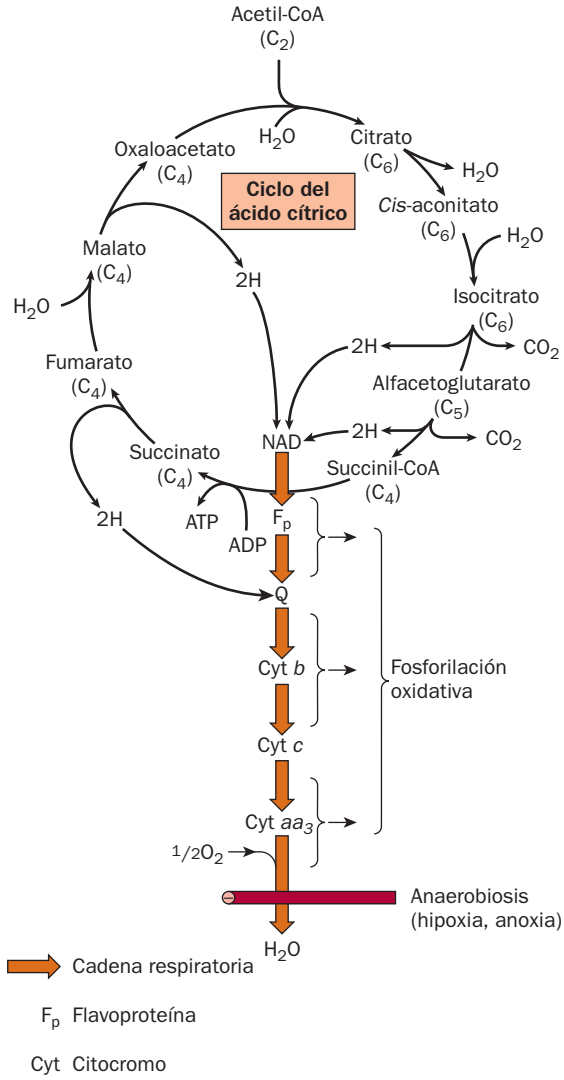


FIGURA 16-2 **El ciclo del ácido cítrico: la vía principal catabólica para la acetil-CoA.** La acetil-CoA, el producto del catabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, ingresa al ciclo formando citrato y se oxida a CO_2 con la reducción de las coenzimas. La reoxidación de las coenzimas en la cadena respiratoria conduce a la fosforilación del ADP a ATP. Durante un ciclo, se generan nueve ATP a través de la fosforilación oxidativa y surge un ATP (o GTP), a nivel de sustrato, a partir de la conversión de succinil-CoA en succinato.

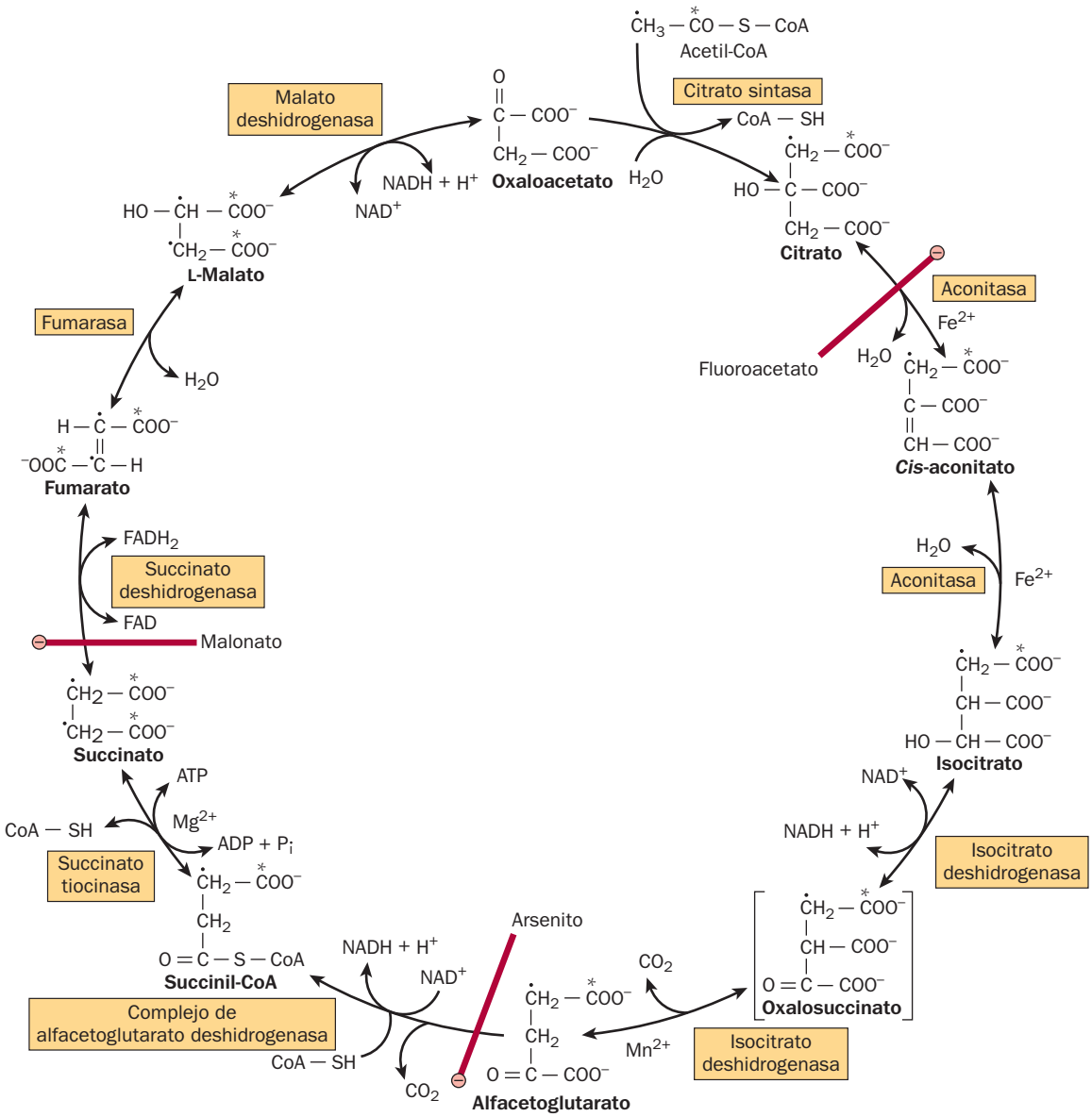


FIGURA 16-3 El ciclo del ácido cítrico (Krebs). La oxidación de NADH y $FADH_2$, en la cadena respiratoria, conduce a la formación de ATP a través de la fosforilación oxidativa. Para seguir el paso de la acetil-CoA a través del ciclo, los dos átomos de carbono del residuo acetilo se muestran marcados en el carbono carboxílico (*) y en el carbono metílico (•). Aunque dos átomos de carbono se pierden como CO_2 en una vuelta del ciclo, estos átomos no se derivan de la acetil-CoA que ha entrado inmediatamente en el ciclo, sino de la porción de la molécula de citrato que se derivó del oxaloacetato. Sin embargo, al completar una sola vuelta del ciclo, el oxaloacetato que se regenera ahora está marcado, lo que lleva a que el CO_2 marcado se desarrolle durante el segundo turno del ciclo. Debido a que el succinato es un compuesto simétrico, la "aleatorización" de la marca ocurre en esta etapa, de modo que los cuatro átomos de carbono del oxaloacetato parecen estar marcados después de un giro del ciclo. Durante la gluconeogénesis, parte de la etiqueta del oxaloacetato se incorpora en la glucosa y el glucógeno (véase figura 20-1). Los sitios de inhibición (⊖) por fluoroacetato, malonato y arsenito están indicados.

La oxidación del isocitrato ligada a la cadena respiratoria ocurre a través de la enzima dependiente del NAD^+.

El alfacetoglutarato se somete a una **descarboxilación oxidativa**, en una reacción catalizada por un complejo multienzimático similar al involucrado en la descarboxilación oxidativa del piruvato (véase figura 17-5). El **complejo alfacetoglutarato deshidrogenasa** requiere los mismos cofactores que el complejo piruvato deshidrogenasa —tiamina difosfato, lipoato, NAD^+, dinucleótido de adenina flavina (FAD, *flavin adenine dinucleotide*) y CoA— y da como resultado la formación de succinil-CoA. El equilibrio de esta reacción es tan favorable a la formación de succinil-CoA que se debe considerar fisiológicamente unidireccional. Como en el caso de la oxidación de piruvato (véase capítulo 17), el arsenito inhibe la reacción, lo que provoca que el sustrato **alfacetoglutarato** se acumule. Las altas concentraciones de amoniaco inhiben la alfacetoglutarato deshidrogenasa.

La succinil-CoA se convierte en succinato por la enzima **succinato tiocinasa** (**succinil-CoA sintetasa**). Éste es el único ejemplo de fosforilación a nivel de sustrato en el ciclo del ácido cítrico. Los tejidos en los que se produce la gluconeogénesis (el hígado y el riñón) contienen dos isoenzimas de succinato tiocinasa, una específica para el GDP y la otra para el ADP. El GTP formado se usa para la descarboxilación del oxaloacetato a fosfoenolpiruvato en la gluconeogénesis, y proporciona un vínculo regulador entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la retirada de oxaloacetato para la gluconeogénesis. Los tejidos no gluconeogénicos sólo tienen la isoenzima que fosforila el ADP.

Cuando los cuerpos cetónicos se metabolizan en tejidos extrahepáticos, hay una reacción alternativa catalizada por la **succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa (tioforasa)**, que implica la transferencia de CoA de succinil-CoA a acetoacetato, formando acetoacetil-CoA y succinato (véase capítulo 22).

El metabolismo progresivo del succinato, que conduce a la generación de oxalacetato, es la misma secuencia de reacciones químicas que ocurre en la betaoxidación de ácidos grasos: deshidrogenación para formar un doble enlace carbono-carbono, adición de agua para formar un grupo hidroxilo, y una deshidrogenación adicional para proporcionar el oxogrupo de oxaloacetato.

La primera reacción de deshidrogenación, que forma fumarato, es catalizada por la **succinato deshidrogenasa**, que está unida a la superficie interna de la membrana mitocondrial interna. La enzima contiene FAD y proteína de hierro-azufre (Fe-S), y reduce directamente la ubiquinona en la cadena de transporte de electrones. La **fumarasa (fumarato hidratasa)** cataliza la adición de agua a través del doble enlace del fumarato, produciendo malato. La **malato deshidrogenasa** oxida el malato a oxaloacetato, relacionado con la reducción de la NAD^+. Aunque el equilibrio de esta reacción favorece fuertemente al malato, el flujo neto es a oxaloacetato, debido a la eliminación continua del oxaloacetato (para formar citrato, como sustrato para la gluconeogénesis, o al someterse a la transaminación al aspartato), y también a la continua reoxidación de la NADH.

SE FORMAN DIEZ ATP POR CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

Como resultado de las oxidaciones catalizadas por las deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico, se producen tres moléculas de NADH y una de $FADH_2$ por cada molécula de acetil-CoA catabolizada en cada ciclo. Estos equivalentes reductores se transfieren a la cadena respiratoria (véase figura 13-3), donde la reoxidación de cada NADH da como resultado la formación de ~2.5 ATP, de $FADH_2$, y ~1.5 ATP. Además, 1 ATP (o GTP) se forma por la fosforilación a nivel de sustrato, catalizado por la succinato tiocinasa.

LAS VITAMINAS DESEMPEÑAN ROLES VITALES EN EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

Cuatro de las vitaminas B (véase capítulo 44) son esenciales en el ciclo del ácido cítrico y, por tanto, en el metabolismo productor de energía: la **riboflavina**, como FAD, es el cofactor para la succinato deshidrogenasa; la **niacina**, como NAD^+, es el receptor de electrones para la isocitrato deshidrogenasa, la alfacetoglutarato deshidrogenasa y la malato deshidrogenasa; la tiamina (**vitamina B_1**), como difosfato de tiamina, es la coenzima para la descarboxilación en la reacción de la alfacetoglutarato deshidrogenasa; y el **ácido pantoténico**, como parte de la coenzima A, se esterifica a ácidos carboxílicos para formar acetil-CoA y succinil-CoA.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO DESEMPEÑA UN PAPEL DECISIVO EN EL METABOLISMO

El ciclo del ácido cítrico no es sólo una vía para la oxidación de dos unidades de carbono; también es la vía principal para la interconversión de metabolitos derivados de la **transaminación** y **desaminación** de aminoácidos (véanse capítulos 28 y 29), y proporciona los sustratos para la **síntesis de aminoácidos** por transaminación (véase capítulo 27), así como para la **gluconeogénesis** (véase capítulo 19) y la **síntesis de ácidos grasos** (véase capítulo 23). Debido a que funciona tanto en procesos oxidativos como de síntesis, es **anfibólico** (**figura 16-4**).

El ciclo del ácido cítrico participa en la gluconeogénesis, la transaminación y la desaminación

Todos los intermediarios del ciclo son potencialmente **glucogénicos**, ya que pueden dar lugar al oxaloacetato y, por tanto, a la producción de glucosa (en el hígado y los riñones, que llevan a cabo la gluconeogénesis; véase capítulo 19). La enzima clave que cataliza la transferencia del ciclo a la gluconeogénesis es la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, que cataliza la descarboxilación del oxaloacetato a fosfoenolpiruvato, actuando el GTP como donante de fosfato (véase figura 19-1). El GTP requerida para esta reacción es proporcionada por la isoenzima dependiente del GDP de la tiocinasa succinada. Esto asegura que el oxaloacetato no se retirará del ciclo de gluconeogénesis, si eso llevara a reducir los intermediarios del ciclo del ácido cítrico y, por tanto, a reducir la generación de ATP.

La transferencia neta en el ciclo ocurre como resultado de varias reacciones. Entre las reacciones **anapleróticas** más importantes se encuentra la formación de oxaloacetato por la carboxilación de piruvato, catalizada por la **piruvato carboxilasa** (figura 16-4). Esta reacción es importante para mantener una concentración adecuada de oxaloacetato para la reacción de condensación con acetil-CoA. Si se acumula acetil-CoA, ésta actúa de dos maneras, como un activador alósterico de la piruvato carboxilasa y como un inhibidor de la piruvato deshidrogenasa, asegurando así el suministro de oxaloacetato. El lactato, un sustrato importante para la gluconeogénesis, ingresa al ciclo por oxidación a piruvato y luego por carboxilación a oxaloacetato. El **glutamato** y la **glutamina** son sustratos anapleróticos importantes, porque producen alfacetoglutarato como resultado de las reacciones catalizadas por la glutaminasa y la glutamato deshidrogenasa. La transaminación del **aspartato** conduce directamente a la formación de oxaloacetato; y también son sustratos anapleróticos importantes una variedad de compuestos que se metabolizan para producir **propionil CoA**, que se puede carboxilar e isomerizar a succinil CoA.

Las reacciones de **aminotransferasas** (transaminasas) forman piruvato de alanina, oxaloacetato de aspartato y alfacetoglutarato

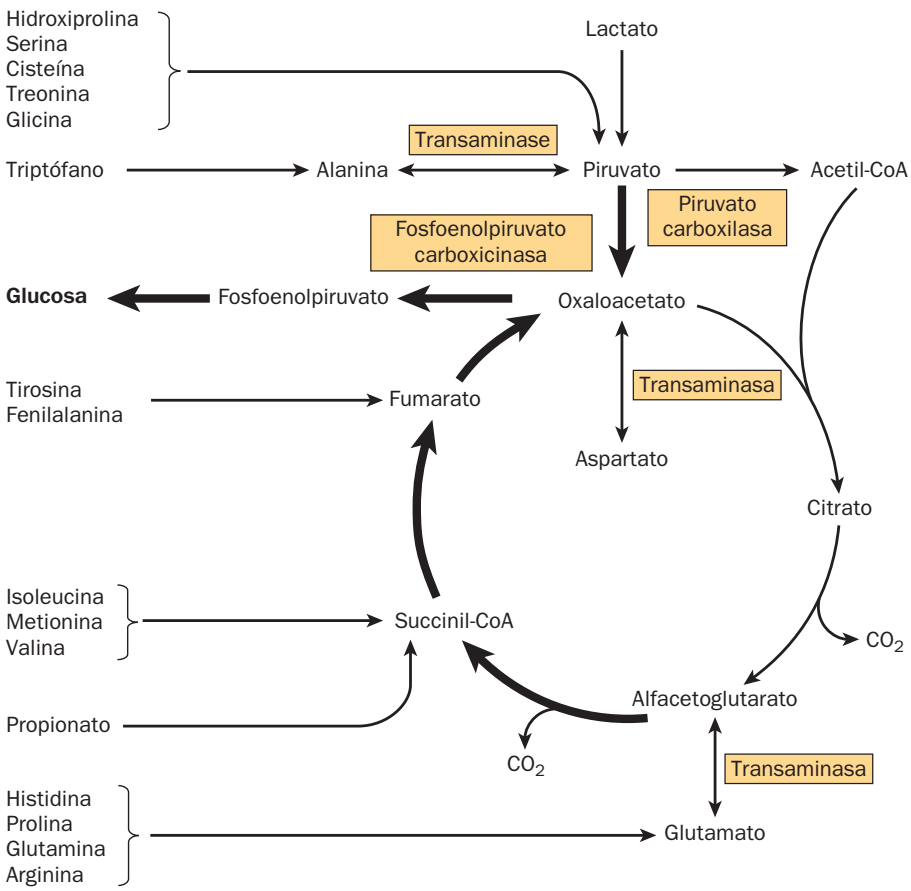


FIGURA 16-4 **Implicación del ciclo del ácido cítrico en la transaminación y gluconeogénesis.** Las flechas en negrita indican la ruta principal de la gluconeogénesis.

de glutamato. Debido a que estas reacciones son reversibles, el ciclo también sirve como fuente de esqueletos de carbono para la síntesis de estos aminoácidos. Otros aminoácidos contribuyen a la gluconeogénesis, debido a que sus esqueletos de carbono dan lugar a intermediarios del ácido cítrico. La alanina, cisteína, glicina, hidroxiprolina, serina, treonina y triptófano producen piruvato; la arginina, histidina, glutamina y prolina producen alfacetoglutarato; la isoleucina, metionina y valina producen succinil-CoA; la tirosina y fenilalanina producen fumarato (figura 16-4).

El ciclo del ácido cítrico no proporciona en sí mismo una vía para la oxidación completa de los esqueletos de carbono de los aminoácidos que dan lugar a compuestos intermedios tales como alfacetoglutarato, succinil-CoA, fumarato y oxaloacetato, porque esto resultaría en un aumento en la cantidad de oxaloacetato. Para que ocurra la oxidación completa, el oxaloacetato se debe someter a fosforilación y carboxilación a fosfoenolpiruvato (a expensas del GTP), luego a desfosforilación a piruvato (catalizado por la piruvato cinasa) y descarboxilación oxidativa a acetil-Co (catalizada por piruvato deshidrogenasa).

En los rumiantes, cuyo principal combustible metabólico son los ácidos grasos de cadena corta, formados por la fermentación bacteriana, resulta especialmente importante la conversión de propionato —el principal producto glucogénico de la fermentación ruminal— a succinil-CoA, a través de la vía metilmalonil-CoA (véase figura 19-2).

El ciclo del ácido cítrico toma parte en la síntesis del ácido graso

La acetil-CoA, formada a partir de piruvato por acción de la piruvato deshidrogenasa, es el principal sustrato para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga en los no rumiantes (**figura 16-5**). (En los rumiantes, la acetil-CoA se obtiene directamente del acetato.) La piruvato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial, y la síntesis de ácidos grasos es una vía citosólica; la membrana mitocondrial es impermeable a la acetil-CoA. Para que la acetil-CoA esté disponible en el citosol, el citrato se transporta desde la mitocondria hasta el citosol, luego se escinde en una reacción catalizada por la **citrato liasa** (figura 16-5). El citrato sólo está disponible para el transporte fuera de la mitocondria cuando la aconitasa es inhibida por su producto, y por tanto saturada con su sustrato, de modo que el citrato no puede ser canalizado directamente desde la citrato sintasa hacia la aconitasa. Esto asegura que el citrato se use para la síntesis de ácidos grasos sólo cuando hay una cantidad adecuada para asegurar la actividad continuada del ciclo.

El oxaloacetato liberado por la citrato liasa no puede reincorporarse a la mitocondria, sino que se reduce a malato a expensas de la NADH, y el malato se somete a una descarboxilación oxidativa en piruvato, reduciendo el $NADP^+$ a NADPH. Esta reacción, catalizada por la enzima málica, es la fuente de la mitad de la NADPH requerida para la síntesis de ácidos grasos (el resto lo proporciona

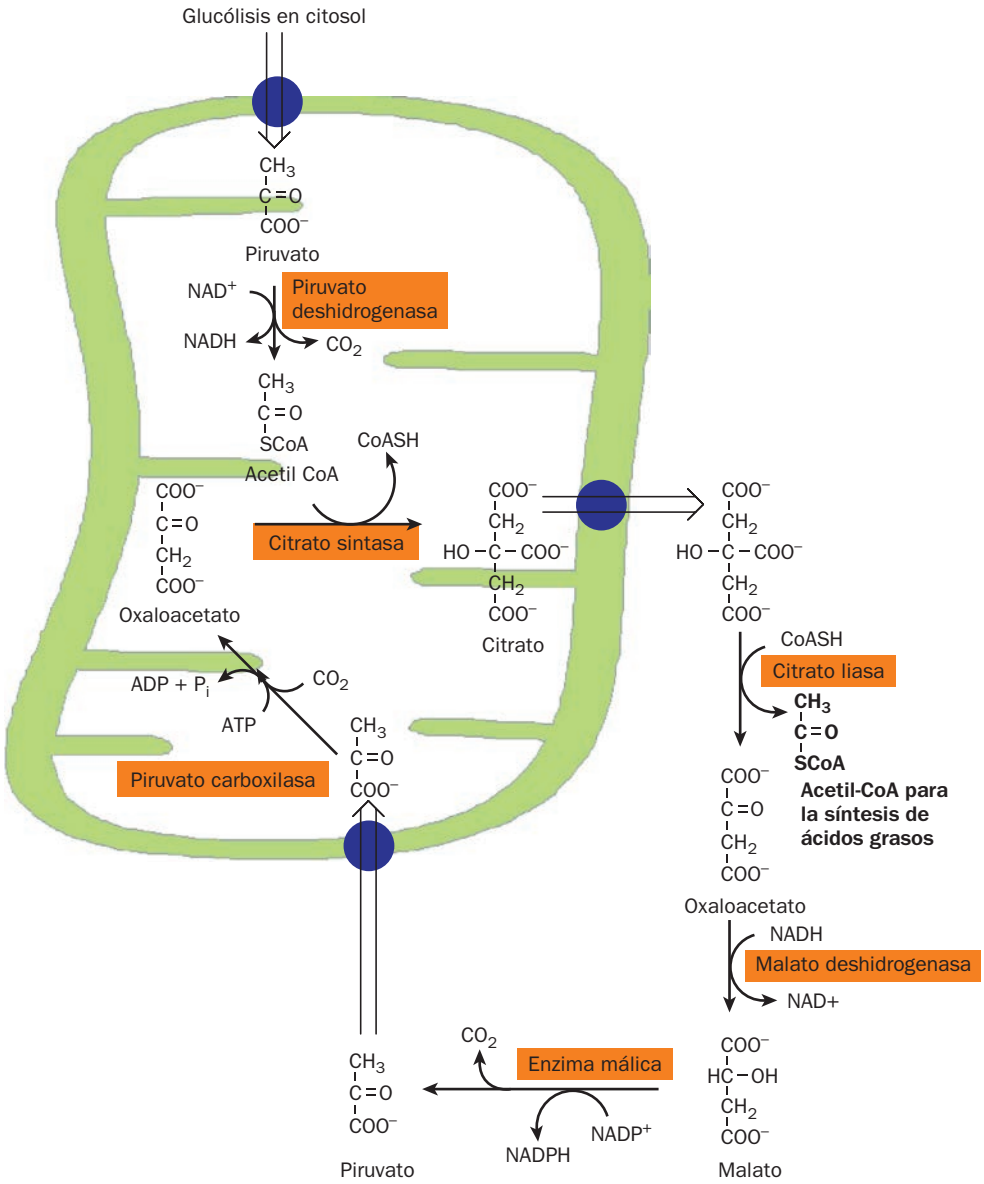


FIGURA 16-5 **Participación del ciclo del ácido cítrico en la provisión de acetil-CoA citosólico para la síntesis de ácidos grasos a partir de la glucosa.** Véase también figura 23-5.

la vía de la pentosa fosfato, véase capítulo 20). El piruvato entra en la mitocondria y se carboxila a oxaloacetato por la piruvato carboxilasa, una reacción ATP-dependiente en la cual la coenzima es la vitamina biotina.

La regulación del ciclo del ácido cítrico depende principalmente de una provisión de cofactores oxidados

En la mayoría de los tejidos, donde la función principal del ciclo del ácido cítrico es el metabolismo que produce energía, el **control respiratorio** mediante la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa regulan la actividad del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 13). Por tanto, la actividad depende inmediatamente del suministro de NAD^+ que a su vez, debido al estrecho acoplamiento entre la oxidación y la fosforilación, depende de la disponibilidad de ADP y por tanto, en última instancia, del uso del ATP en el trabajo físico y químico. Además, las enzimas individuales del ciclo están reguladas. Los principales sitios para la regulación son las reacciones que no están en equilibrio catalizadas por la piruvato deshidrogenasa, citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y alfacetoglutarato deshidrogenasa. Las deshidrogenasas se activan con Ca^{2+}, que aumenta la concentración durante la contracción del músculo, y durante la secreción de otros tejidos cuando aumenta la demanda de energía. En un tejido como el cerebro, que es muy dependiente de los carbohidratos para suministrar acetil-CoA, el control del ciclo del ácido cítrico puede ocurrir en la piruvato deshidrogenasa. Varias enzimas responden al estado de energía como lo muestran los cocientes [ATP]/[ADP] y [NADH]/[NAD^+]. Por tanto, hay inhibición alostérica de la citrato sintasa por la ATP y la acil-CoA grasa de cadena larga. La activación alostérica de la isocitrato deshidrogenasa, dependiente del NAD mi-

tocondrial por ADP, es contrarrestada por la ATP y NADH. El complejo alfacetoglutarato deshidrogenasa está regulado de la misma manera que la piruvato deshidrogenasa (véase figura 17-6). La succinato deshidrogenasa está inhibida por el oxaloacetato, y la disponibilidad de oxaloacetato está controlada por la malato deshidrogenasa y depende de la relación [NADH]/[NAD^+]. Dado que la K_m de la citrato sintasa para el oxaloacetato es del mismo orden de magnitud que la concentración intramitocondrial, es probable que la concentración de oxaloacetato controle la velocidad de formación del citrato.

La **hiperamonemia**, como ocurre en la enfermedad hepática avanzada y una serie de (raras) enfermedades genéticas del metabolismo de los aminoácidos, conduce a la pérdida de conciencia, coma y convulsiones, y puede ser fatal. Esto se debe principalmente a la retirada del alfacetoglutarato para formar glutamato (catalizado por la glutamato deshidrogenasa) y glutamina con posterioridad (catalizada por la glutamina sintetasa), lo que conduce a concentraciones reducidas de todos los intermediarios del ciclo de ácido cítrico, y por tanto a la generación reducida de ATP. El equilibrio de la glutamato deshidrogenasa está finamente estabilizado, y la dirección de reacción depende de la proporción NAD^+: NADH y de la concentración de iones de amonio. Además, el amoniaco inhibe la alfacetoglutarato deshidrogenasa, y posiblemente también la piruvato deshidrogenasa.

RESUMEN

- El ciclo del ácido cítrico es la vía final para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Su metabolito final común, la acetil-CoA, reacciona con el oxaloacetato para formar el citrato. Mediante una serie de deshidrogenaciones y descarboxilaciones, el citrato se degrada, reduciendo las coenzimas, liberando dos CO_2 y regenerando el oxaloacetato.
- Las coenzimas reducidas se oxidan por la cadena respiratoria ligada a la formación de ATP. Por tanto, el ciclo es la ruta principal para la formación de ATP, y está localizado en la matriz de las mitocondrias adyacentes a las enzimas de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.
- El ciclo del ácido cítrico es anfibólico, ya que además de la oxidación excesiva es importante en la provisión de esqueletos de carbono para la gluconeogénesis, acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos y la interconversión de aminoácidos.

CAPÍTULO

Glucólisis y oxidación del piruvato

17

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir la vía de la glucólisis y su control, y explicar cómo la glucólisis puede operar en condiciones anaerobias.
- Describir la reacción de piruvato deshidrogenasa y su regulación.
- Explicar cómo la inhibición del metabolismo del piruvato conduce a la acidosis láctica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La mayoría de los tejidos tienen al menos algún requerimiento de glucosa; en el cerebro, el requerimiento es sustancial —incluso en ayunos prolongados—, el cerebro no puede satisfacer más del 20% de sus necesidades energéticas a partir de cuerpos cetónicos. La glucólisis es la vía principal del metabolismo de la glucosa (y de otros carbohidratos). Ocurre en el citosol de todas las células, y puede funcionar tanto de forma aerobia como anaerobia, según la disponibilidad de oxígeno y de la cadena de transporte de electrones y, por tanto, de la presencia de mitocondrias. Los eritrocitos, que carecen de mitocondrias, dependen completamente de la glucosa como combustible metabólico, y la metabolizan mediante glucólisis anaerobia.

La capacidad de la glucólisis para proporcionar trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) en ausencia de oxígeno, permite que el músculo esquelético funcione a niveles muy altos de producción cuando el suministro de oxígeno es insuficiente, y posibilita que los tejidos sobrevivan a episodios anóxicos. Sin embargo, el músculo cardiaco, que está adaptado para el rendimiento aeróbico, tiene una actividad glucolítica relativamente baja, y una supervivencia deficiente en condiciones de **isquemia**. Las enfermedades en las que las enzimas de la glucólisis (p. ej., piruvato cinasa) son deficientes se ven principalmente como **anemias hemolíticas**, o como **fatiga** si el defecto afecta el músculo esquelético (p. ej., fosfofructocinasa). En las células cancerígenas de rápido crecimiento, la glucólisis avanza a un ritmo elevado, formando grandes cantidades de piruvato, que se reduce a lactato y se exporta. Esto produce un entorno local relativamente ácido en el tumor. El lactato se usa para la gluconeogénesis en el hígado (véase capítulo 19), un proceso costoso en términos de energía, que es responsable de gran parte del **hipermetabolismo** observado en la **caquexia por cáncer**. La **acidosis láctica** es el resultado de varias causas, incluida la reducción de la actividad de la piruvato deshidrogenasa, en especial cuando hay deficiencia de tiamina (vitamina B_1).

LA GLUCÓLISIS PUEDE FUNCIONAR EN CONDICIONES ANAEROBIAS

Al principio de las investigaciones de la glucólisis, se descubrió que la fermentación en las levaduras era similar a la rotura del glucógeno en el músculo. Cuando un músculo se contrae en condiciones anaerobias, el **glucógeno desaparece** y **aparece lactato**. Cuando se ingresa oxígeno, se produce una recuperación aeróbica, y ya no se produce lactato. Si la contracción muscular ocurre en condiciones aeróbicas, el lactato no se acumula y el piruvato es el producto final de la glucólisis. El piruvato se oxida aún más a CO_2 y agua (**figura 17-1**). Cuando hay escasez de oxígeno, la reoxidación mitocondrial de la forma reducida del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH, *nicotinamide adenine dinucleotide*) formado durante la glucólisis se afecta, y el NADH se reoxida al reducir el piruvato a lactato, lo que permite que continúe la glucólisis. Mientras que la glucólisis puede ocurrir en condiciones de baja actividad aeróbica, esto tiene un precio, ya que limita la cantidad de ATP formada por mol de glucosa oxidada, por lo que se debe metabolizar mucha más glucosa en condiciones anaerobias que en las aerobias (**cuadro 17-1**). En la levadura y algunos otros microorganismos, el piruvato formado en la glucólisis anaerobias no se reduce a lactato, sino que se descarboxila y se reduce a etanol.

LAS REACCIONES DE GLUCÓLISIS CONSTITUYEN LA VÍA PRINCIPAL DEL USO DE LA GLUCOSA

La ecuación general para la glucólisis de glucosa a lactato es la siguiente:

$$\text{Glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ P_i \rightarrow 2\ \text{Lactato} + 2\ \text{ATP} + 2\ H_2O$$

Todas las enzimas de la glucólisis (**figura 17-2**) son citosólicas. La glucosa entra en la glucólisis por fosforilación de la glucosa-6-fosfa-

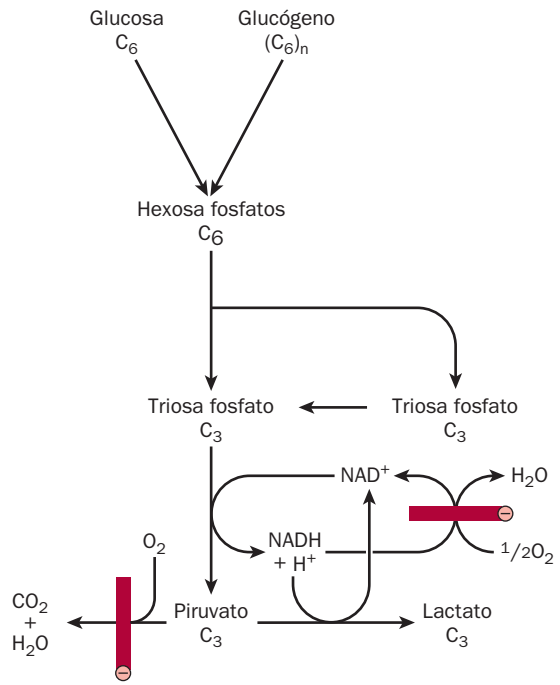


FIGURA 17-1 Sumario de la glucólisis. ⊖, bloqueado en condiciones anaerobias o por la ausencia de mitocondrias que contienen enzimas respiratorias clave, como en los eritrocitos.

to, catalizada por **hexocinasa**, utilizando ATP como donante de fosfato. En condiciones fisiológicas, la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato puede considerarse irreversible. La hexocinasa es inhibida alostéricamente por su producto, la glucosa-6-fosfato.

En tejidos diferentes al del hígado (y las células β de los islotes pancreáticos), la disponibilidad de glucosa para la glucólisis (o la síntesis de glucógeno en el músculo, capítulo 18, y la lipogénesis en el tejido adiposo, capítulo 23) se controla mediante el transporte a la célula, que es regulado por la **insulina**. La hexocinasa tiene una alta afinidad (baja K_m) por la glucosa, y en el hígado está saturada en condiciones normales, por lo que actúa a un ritmo constante para proporcionar glucosa-6-fosfato para satisfacer las necesidades del hígado. Las células hepáticas también contienen una isoenzima de hexocinasa, la **glucocinasa**, que tiene una K_m muy superior a la concentración de glucosa intracelular normal. La función de la glucocinasa en el hígado es eliminar la glucosa de la sangre portal hepática después de la comida, por lo que regula la concentración de glucosa disponible para los tejidos periféricos. Esto proporciona más glucosa-6-fosfato requerida para la glucólisis; se usa para la síntesis de glucógeno y lipogénesis. La glucocinasa también se encuentra en las células β de los islotes pancreáticos, donde funciona para detectar altas concentraciones de glucosa en la sangre portal. A medida que la glucocinasa fosforila más glucosa la glucólisis aumenta, lo que conduce a una mayor formación de ATP. Esto lleva al cierre de un canal de ATP-potasio, lo que provoca la despolarización de la membrana, y la apertura del canal de calcio dependiente de la ventilación. La afluencia resultante de iones de calcio conduce a la fusión de los gránulos secretores de insulina con la membrana celular, y a la liberación de insulina.

La glucosa-6-fosfato es un compuesto importante en la unión de varias vías metabólicas: glucólisis, gluconeogénesis (véase ca-

CUADRO 17-1 Formación de ATP en el catabolismo de la glucosa

Ruta	Reacción catalizada por	Método de formación de ATP	ATP por mol de glucosa
Glucólisis	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de 2 NADH	5[a]
	Fosfoglicerato cinasa	Fosforilación a nivel de sustrato	2
	Piruvato cinasa	Fosforilación a nivel de sustrato	2
			9
	Consumo de ATP para reacciones de hexocinasa y fosfofructocinasa		–2
			Neto 7
Ciclo del ácido cítrico	Piruvato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de 2 NADH	5
	Isocitrato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de 2 NADH	5
	α-cetoglutarato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de 2 NADH	5
	Succinato de tiocinasa	Nivel de sustrato de fosforilación	2
	Succinato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de flavín adenín dinucleótido 2 ($FADH_2$, *flavin adenine dinucleotide*)	3
	Malato deshidrogenasa	Oxidación de la cadena respiratoria de 2 NADH	5
			Neto 25
	Total por mol de glucosa en condiciones aeróbicas		32
	Total por mol de glucosa en condiciones anaerobias		2

[a] Esto supone que el NADH formado en la glucólisis es transportado a las mitocondrias por el transportador malato (véase figura 13-13). Si se usa el transportador de glicerofosfato, entonces sólo se formará 1.5 ATP por mol de NADH. Hay una ventaja considerable en el uso de glucógeno en lugar de la glucosa para la glucólisis anaerobia en el músculo, ya que el producto de la glucógeno fosforilasa es glucosa-1-fosfato (véase figura 18-1), que es interconvertible con la glucosa-6-fosfato. Esto ahorra el ATP, que de lo contrario sería utilizado por la hexocinasa, aumentando el rendimiento neto de ATP de 2 a 3 por glucosa.

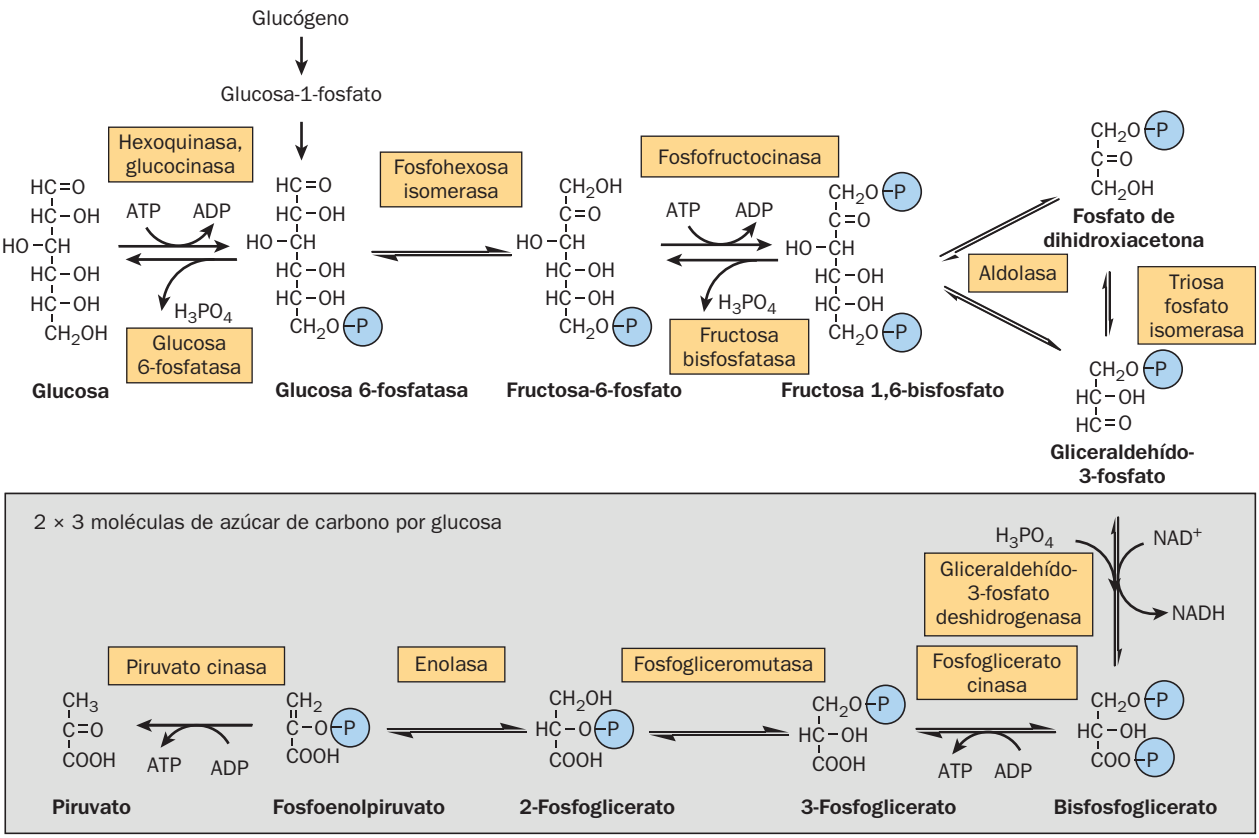


FIGURA 17-2 **El camino de la glucólisis.** (Ⓟ, $—PO_3^{2-}$; P_i, $HOPO_3^{2-}$; ⊖, inhibición). Los carbonos 1-3 de fructosa bisfosfato forman dihidroxiacetona fosfato y los carbonos 4-6 forman gliceraldehído-3-fosfato.

pítulo 19), la vía de la pentosa fosfato (véase capítulo 20), la glucogénesis y la glucogenólisis (véase capítulo 18). En la glucólisis, se convierte en fructosa-6-fosfato por la **fosfohexosa isomerasa**, que implica una isomerización de la aldosa-cetosa. Esta reacción es seguida por otra fosforilación catalizada por la enzima **fosfofructocinasa** (fosfofructocinasa-1) que forma fructosa 1,6-bisfosfato. La reacción de fosfofructocinasa es irreversible en condiciones fisiológicas. La fosfofructocinasa es tanto inducible como sujeta a la regulación alostérica, y tiene un papel principal en la regulación de la velocidad de glucólisis. La fructosa 1,6-bisfosfato es dividida por la **aldolasa** (fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa) en dos triosa fosfatos, gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato, que se interconvierten mediante la enzima **fosfotriosa isomerasa**.

La glucólisis continúa con la oxidación de gliceraldehído-3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato. La enzima que cataliza esta oxidación, **gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa**, es dependiente de NAD. Estructuralmente, consta de cuatro polipéptidos idénticos (monómeros) que forman un tetrámero. Cuatro grupos —SH están presentes en cada polipéptido, derivados de residuos de cisteína dentro de la cadena polipeptídica. Uno de los grupos —SH es el sitio activo de la enzima (**figura 17-3**). El sustrato se combina inicialmente con este grupo —SH, formando un tiohemiacetal que se oxida a un tiol éster; los hidrógenos removidos en esta oxidación se transfieren al NAD^+. Con posterioridad el tiol éster sufre fosforólisis; se añade fosfato inorgánico (P_i), formando 1,3-bisfosfoglicerato y el grupo —SH libre.

En la siguiente reacción, catalizada por la **fosfoglicerato cinasa**, el fosfato se transfiere desde el 1,3-bisfosfoglicerato a la difosfato de adenosina (ADP, *adenosin diphosphate*) formando ATP (fosforilación a nivel de sustrato) y 3-fosfoglicerato. Dado que se forman dos moléculas de triosa fosfato por molécula de glucosa metabolizada, en esta reacción se forman 2× ATP por molécula de glucosa sometida a glucólisis. La toxicidad del arsénico es el resultado de la competencia del arseniato con el fosfato inorgánico (P_i), que forma 1-arseno-3-fosfoglicerato y se somete a hidrólisis espontánea a 3-fosfoglicerato sin formar ATP. El 3-fosfoglicerato se isomeriza a 2-fosfoglicerato por la **fosfoglicerato-mutasa**. Es probable que el 2,3-bisfosfoglicerato (difosfoglicerato [DPG, *diphosphoglycerate*]) sea un intermediario en esta reacción.

El siguiente paso es catalizado por la **enolasa** e implica una deshidratación, formando fosfoenolpiruvato. La enolasa es inhibida por el **flúor**, y cuando se toman muestras de sangre para medir la glucosa, la glucólisis se inhibe al tomar la muestra en tubos que contienen flúor. La enolasa también depende de la presencia de iones Mg^{2+} o Mn^{2+}. El fosfato de fosfoenolpiruvato se transfiere al ADP en otra fosforilación a nivel de sustrato, catalizada por la **piruvato cinasa** para formar 2× ATP por molécula de glucosa oxidada. La reacción de piruvato cinasa es esencialmente irreversible en condiciones fisiológicas, en parte debido al gran cambio de energía libre involucrado, y en parte porque el producto inmediato de la reacción catalizada por enzimas es enolpiruvato, que se somete a isomerización espontánea a piruvato, por lo que el producto de la reacción no está disponible para llevar a cabo una reacción inversa.

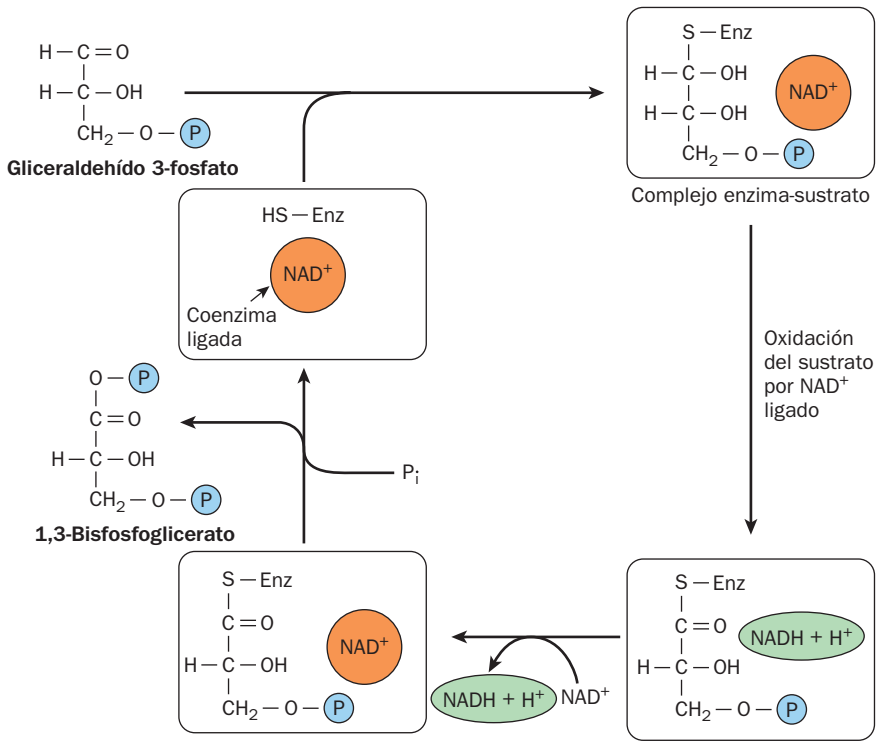


FIGURA 17-3 **Mecanismo de oxidación del gliceraldehído-3-fosfato.** (Enz, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa). La enzima es inhibida por el yodoacetato de la —SH, que puede inhibir la glucólisis. El NADH producido en la enzima no está tan firmemente unido a la enzima como el NAD^+. En consecuencia, el NADH es fácilmente desplazado por otra molécula de NAD^+.

Ahora la disponibilidad de oxígeno determina cuál de los dos caminos se sigue. En **condiciones anaerobias**, el NADH no puede ser reoxidado a través de la cadena respiratoria, y el piruvato se reduce a lactato catalizado por la **lactato deshidrogenasa**. Esto permite la oxidación del NADH, permitiendo que otra molécula de glucosa experimente la glucólisis. En **condiciones aeróbicas**, el piruvato se transporta a las mitocondrias y mediante descarboxilación oxidativa se transforma a acetil-CoA, y luego a CO_2 por oxidación en el ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16). Los equivalentes reductores del NADH formados en la glucólisis son llevados a las mitocondrias, para su oxidación, a través del transportador de malato-aspartato o del transportador de glicerofosfato (véase capítulo 13).

LOS TEJIDOS QUE FUNCIONAN EN CONDICIONES HIPÓXICAS PRODUCEN LACTATO

Esto es cierto para el músculo esquelético, particularmente en las fibras blancas, donde la velocidad de producción de trabajo y, por tanto, la necesidad de formación de ATP, puede exceder la velocidad a la que se puede aprovechar y utilizar el oxígeno. La glucólisis en los eritrocitos siempre termina en lactato, porque las reacciones posteriores de oxidación de piruvato son mitocondriales y los eritrocitos carecen de mitocondria. Otros tejidos que normalmente obtienen gran parte de su energía de la glucólisis y producen lactato incluyen el cerebro, el tracto gastrointestinal, la médula renal, la retina y la piel. La producción de lactato también se incrementa en el choque séptico, y muchos cánceres también producen lactato. El hígado, los riñones y el corazón normalmente toman lactato y lo oxidan, pero lo producen en condiciones hipóxicas.

Cuando la producción de lactato es alta, como en el ejercicio vigoroso, el choque séptico y la caquexia cancerosa, una cantidad considerable se usa en el hígado para la gluconeogénesis (véase capítulo 19), lo que lleva a un aumento en la velocidad metabólica para proporcionar el ATP y trifosfato de guanosina (GTP, *guanosine triphosphate*) necesarios. El aumento en el consumo de oxígeno, como resultado del aumento de la oxidación de los combustibles metabólicos para proporcionar el ATP y GTP necesarios para la gluconeogénesis, se considera como una **deuda de oxígeno** después de un ejercicio vigoroso.

Bajo ciertas condiciones el lactato se puede formar en el citosol, pero luego ingresa en la mitocondria para oxidarse a piruvato y continuar en el metabolismo. Esto proporciona una vía para la transferencia de equivalentes reductores del citotol a la mitocondria para la cadena de transporte de electrones, además del glicerofosfato (véase figura 13-12) y del sistema de transporte malato-aspartato (véase figura 13-13).

LA GLUCÓLISIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS QUE INVOLUCRAN REACCIONES QUE NO ESTÁN EN EQUILIBRIO

Aunque la mayoría de las reacciones de la glucólisis son reversibles libremente, tres son marcadamente exergónicas, y por tanto se deben considerar fisiológicamente irreversibles. Estas reacciones, ca-

talizadas por la **hexocinasa** (y glucocinasa), **fosfofructocinasa** y **piruvato cinasa**, son los principales sitios de regulación de la glucólisis. La fosfofructocinasa se inhibe significativamente a concentraciones intracelulares normales de ATP; como se discute en el capítulo 19, esta inhibición puede ser rápidamente aliviada por el 5′ adenosina monofosfato (5'AMP, *adenosine monophosphate*) que se forma cuando el ADP se comienza a acumular, lo que indica la necesidad de una mayor velocidad de glucólisis. Las células que son capaces de **gluconeogénesis** (invirtiendo la vía glucolítica, capítulo 19) tienen diferentes enzimas que catalizan reacciones para revertir estos pasos irreversibles: glucosa-6-fosfatasa y fructosa 1,6-bisfosfatasa; y para revertir la reacción de la piruvato cinasa, la piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasa. La regulación recíproca de la fosfofructocinasa en la glucólisis, y de la fructosa 1,6-bisfosfatasa en la gluconeogénesis, se discute en el capítulo 19.

La **fructosa** entra en la glucólisis por fosforilación a fructosa-1-fosfato, y pasa por alto los principales pasos reguladores, lo que resulta en la formación de más piruvato y acetil-CoA que lo requerido para la formación de ATP. En el hígado y el tejido adiposo esto conduce a un aumento de la lipogénesis, y un alto consumo de fructosa puede ser un factor en el desarrollo de la obesidad.

En los eritrocitos, el primer sitio de formación de ATP en la glucólisis se puede eludir

En los eritrocitos, la reacción catalizada por la **fosfoglicerato cinasa** puede ser superada en cierta medida por la reacción de la **bisfosfoglicerato mutasa**, que cataliza la conversión del 1,3-bisfosfoglicerato a 2,3-bisfosfoglicerato, seguido de la hidrólisis a 3-fosfoglicerato y P_i, catalizado por la **2,3- bisfosfoglicerato fosfatasa** (**figura 17-4**). Esta vía no implica un rendimiento neto de ATP por glucólisis, pero proporciona 2,3-bisfosfoglicerato, que se une a la hemoglobina disminuyendo su afinidad por el oxígeno, haciendo que el oxígeno esté más a disposición de los tejidos (véase capítulo 6).

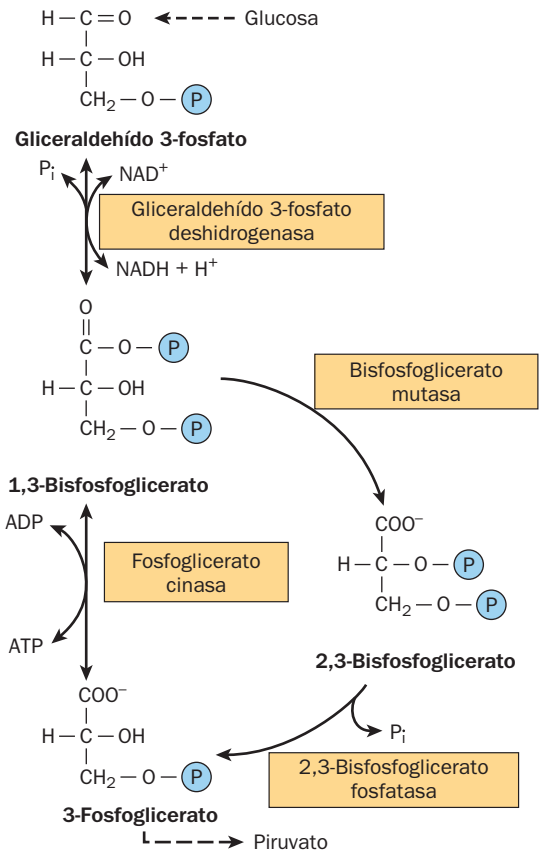


FIGURA 17-4 **La ruta 2,3-bisfosfoglicerato en los eritrocitos.**

LA OXIDACIÓN DEL PIRUVATO PARA FORMAR ACETIL-COA ES LA RUTA IRREVERSIBLE DE LA GLUCÓLISIS AL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

El piruvato se transporta a la mitocondria por un simporte de protones. Luego se somete a descarboxilación oxidativa para convertirse en acetil-CoA, catalizada por un complejo multienzimático que se asocia con la membrana mitocondrial interna. Este **complejo piruvato-deshidrogenasa** es análogo al complejo α-cetoglutarato-deshidrogenasa del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16). El piruvato es descarboxilado por el componente **piruvato deshidrogenasa** del complejo enzimático, para formar un derivado hidroxietílico del anillo tiazol del **difosfato de tiamina** unido a la enzima, que a su vez reacciona con la lipoamida oxidada, el grupo prostético de **dihidrolipoil transacetilasa**, hasta formar acetil lipoamida (**figura 17-5**). En la deficiencia de tiamina (vitamina B_1, véase capítulo 44) el metabolismo de la glucosa se ve afectado, y existe una acidosis láctica y pirúvica (con peligro potencial para la vida). La acetil lipoamida reacciona con la coenzima A para formar acetil-CoA y lipoamida reducida. La reacción se completa cuando la lipoamida reducida es re-oxidada por una flavoproteína, **dihidrolipoil deshidrogenasa**, que contiene el dinucleótido flavin adenina (FAD, *flavin adenine dinucleotide*). Finalmente, la flavoproteina reducida es oxidada por la NAD^+, que a su vez transfiere equivalentes reductores a la cadena respiratoria. La reacción general es:

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{Acetil-CoA} + \text{NADH} + H^+ + CO_2$$

El complejo piruvato deshidrogenasa consiste en un número de cadenas polipéptidas de cada una de las tres enzimas componentes, y los intermediarios no se disocian, sino que se canalizan de un sitio enzimático al siguiente. Esto aumenta la velocidad de reacción e impide las reacciones secundarias.

La piruvato deshidrogenasa se regula mediante la inhibición del producto final y la modificación covalente

La piruvato deshidrogenasa es inhibida por sus productos, acetil-CoA y NADH (**figura 17-6**). También está regulada por la fosforilación (catalizada por una cinasa) de tres residuos de serina en el componente piruvato deshidrogenasa del complejo multienzimático, lo que da como resultado una actividad disminuida y una desfosforilación (catalizada por una fosfatasa), que provoca un aumento de la actividad. La cinasa se activa por aumentos en las proporciones [ATP]/[ADP], [acetil-CoA]/[CoA] y [NADH]/[NAD^+]. Así la piruvato deshidrogenasa, y por tanto la glucólisis, se inhiben cuando hay ATP (y coenzimas reducidas para la formación de ATP) disponibles, y también cuando se oxidan los ácidos grasos. En ayunas, cuando las concentraciones de ácidos grasos no esterificados

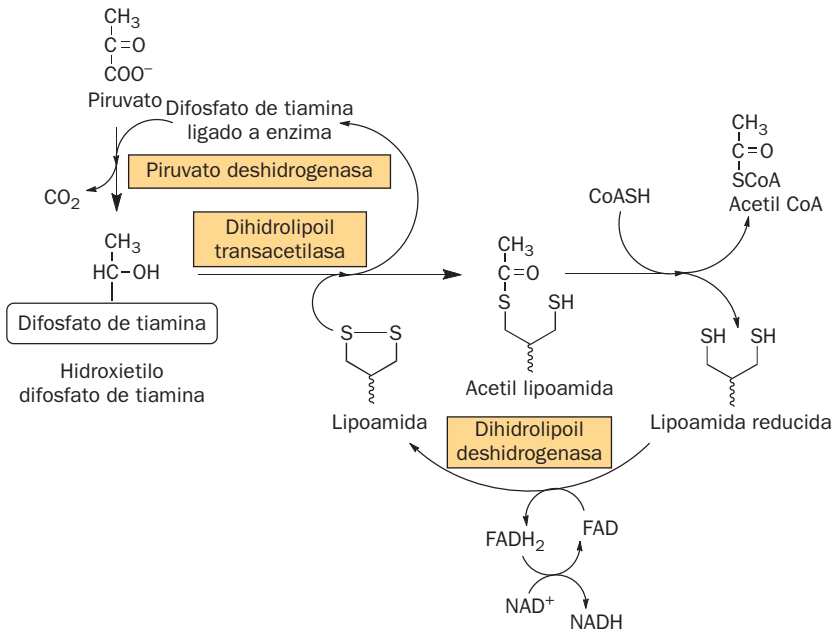


FIGURA 17-5 **Descarboxilación oxidativa del piruvato por el complejo piruvato deshidrogenasa.** El ácido lipoico se une mediante una unión amida a un residuo de lisina del componente transacetilasa del complejo enzimático. Forma un brazo flexible largo, lo que permite que el grupo prostético de ácido lipoico rote secuencialmente entre los sitios activos de cada una de las enzimas del complejo. (FAD, flavin adenín dinucleótido; NAD^+, nicotinamida adenina dinucleótido.)

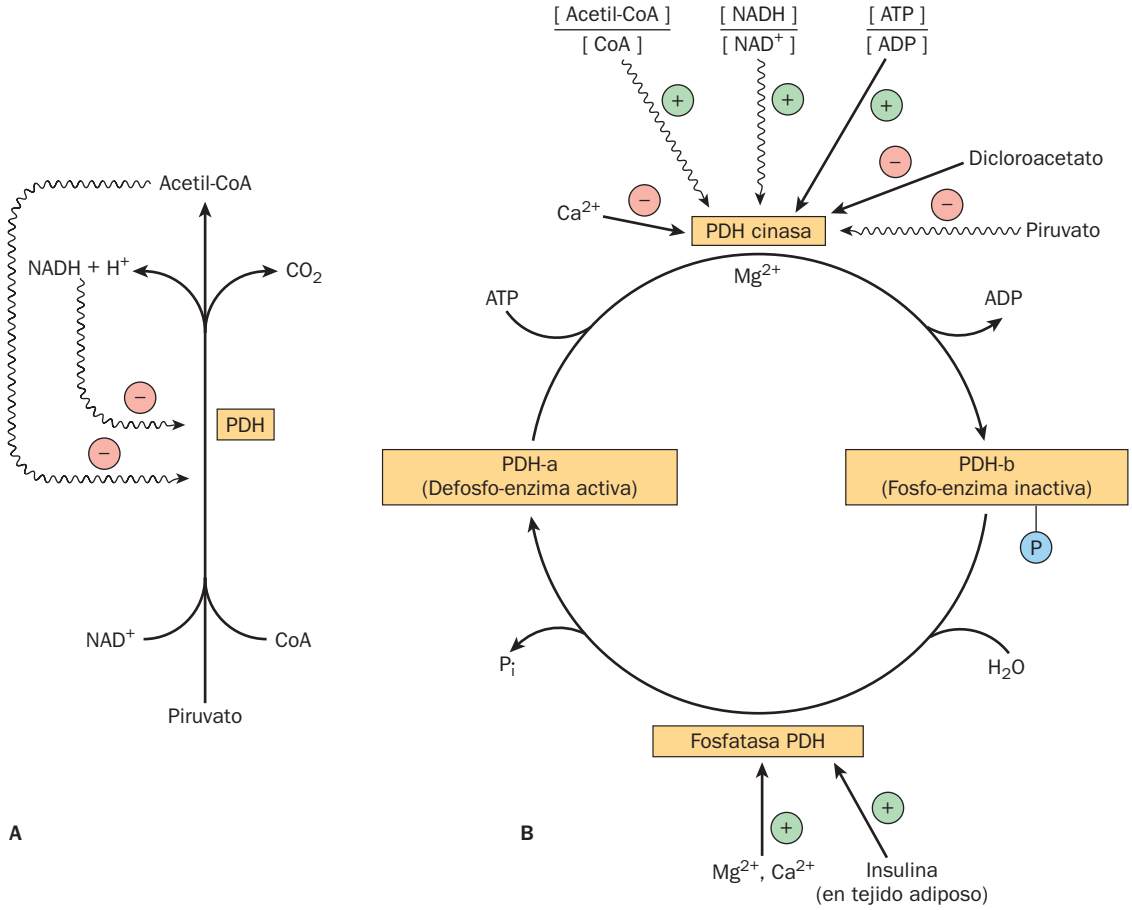


FIGURA 17-6 **Regulación de la piruvato deshidrogenasa (PDH, *pyruvate dehydrogenase*).** Las flechas con ejes ondulados indican efectos alostéricos. **(A)** Regulación por inhibición del producto final. **(B)** Regulación por interconversión de formas activas e inactivas.

aumentan, hay una disminución en la proporción de la enzima en la forma activa, lo que lleva a un ahorro de carbohidratos. En el tejido adiposo, donde la glucosa proporciona acetil-CoA para la lipogénesis, la enzima se activa en respuesta a la insulina.

ASPECTOS CLÍNICOS

La inhibición del metabolismo de piruvato conduce a la acidosis láctica

Los iones mercúrico y arsenito reaccionan con los grupos —SH del ácido lipoico e inhiben la piruvato deshidrogenasa, al igual que la **deficiencia de tiamina en la dieta** (véase capítulo 44), lo que permite la acumulación de piruvato. Muchos alcohólicos tienen deficiencia de tiamina (tanto a causa de una dieta deficiente como a que el alcohol inhibe la absorción de tiamina) y pueden desarrollar acidosis pirúvica y láctica potencialmente fatal. Los pacientes con **deficiencia de piruvato deshidrogenasa por herencia**, que puede ser el resultado de defectos en uno o más de los componentes del complejo enzimático, también presentan acidosis láctica, particularmente después de una carga de glucosa. Debido a la dependencia del cerebro de la glucosa como combustible, estos defectos metabólicos suelen causar trastornos neurológicos.

La deficiencia heredada de aldolasa A y deficiencia de piruvato cinasa en los eritrocitos causa **anemia hemolítica**. La capacidad de ejercicio de los pacientes con **deficiencia de fosfofructocinasa muscular** es baja, especialmente si mantienen dietas altas en carbohidratos.

RESUMEN

- La glucólisis es la vía citosólica en todas las células de mamíferos para el metabolismo de la glucosa (o glucógeno) a piruvato y lactato.
- Puede funcionar anaerobiamente al regenerar NAD^+ oxidado (requerido en la reacción de deshidrogenasa de gliceraldehído-3-fosfato), reduciendo el piruvato a lactato.
- El lactato es el producto final de la glucólisis en condiciones anaerobias (p. ej., en el ejercicio de los músculos) y en los eritrocitos, donde no existen mitocondrias que permitan una mayor oxidación del piruvato.
- La glucólisis está regulada por tres enzimas que catalizan las reacciones de equilibrio: hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa.
- En los eritrocitos, el primer sitio en la glucólisis para la generación de ATP se puede eludir, lo que conduce a la formación de 2,3-bisfosfoglicerato, importante en reducir la afinidad de la hemoglobina por el O_2.
- El piruvato se oxida a acetil-CoA por un complejo multienzimático, la piruvato deshidrogenasa, que depende del cofactor derivado de vitamina, difosfato de tiamina.
- Las condiciones que implican una afectación del metabolismo de piruvato con frecuencia conducen a acidosis láctica.

CAPÍTULO

18

Metabolismo de glucógeno

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir la estructura del glucógeno y su importancia como reserva de carbohidratos.
- Describir la síntesis y la descomposición del glucógeno y cómo se regulan los procesos en respuesta a la acción de la hormona.
- Describir los diversos tipos de enfermedades de almacenamiento de glucógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El glucógeno es el principal carbohidrato de almacenamiento en los animales, que corresponde al almidón en las plantas; es un polímero ramificado de α-D-glucosa (véase figura 15-12). Ocurre principalmente en el hígado y el músculo, con cantidades modestas en el cerebro. Aunque el contenido de glucógeno en el hígado es mayor que el del músculo, debido a que la masa muscular del cuerpo es considerablemente mayor que la del hígado, cerca de tres cuartas partes del glucógeno corporal total se encuentra en el músculo (**cuadro 18-1**).

El glucógeno muscular proporciona una fuente disponible de glucosa-1-fosfato para la glucólisis dentro del propio músculo. El glucógeno hepático funciona como una reserva para mantener la concentración de **glucosa en sangre** en ayunas. La concentración hepática de glucógeno es de aproximadamente 450 mmol/L equivalentes al de glucosa después de una comida, cayendo a aproximadamente 200 mmol/L después de un ayuno nocturno; después de 12 a 18 horas de ayuno, el glucógeno hepático se agota casi por completo. Aunque el glucógeno muscular no produce directamente glucosa libre (porque el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa), el piruvato formado por glucólisis en el músculo puede someterse a transaminación y convertirse en alanina, que se exporta desde el músculo y se usa para la gluconeogénesis en el hígado (véase figura 19-4). Las **enfermedades de almacenamiento de glucógeno** son un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por la deficiente movilización de glucógeno o la deposición de formas anormales de glucógeno, que conducen a daño hepático y debilidad muscular; algunos resultan en muerte temprana.

La estructura altamente ramificada del glucógeno (véase figura 15-12) proporciona una gran cantidad de sitios para la glucogenólisis, lo que permite la liberación rápida de glucosa-1-fosfato para la actividad muscular. Los atletas de resistencia requieren una liberación más lenta y sostenida de glucosa-1-fosfato. La formación de puntos de ramificación en el glucógeno es más lenta que la adición de unidades de glucosa a una cadena lineal, y algunos atletas de resistencia practican la **carga de carbohidratos** y ejercicios hasta el agotamiento (cuando el glucógeno muscular se agota en gran medida) seguido de una comida rica en carbohidratos, lo que resulta en síntesis rápida de glucógeno, con menos puntos de ramificación de lo normal.

LA GLUCOGÉNESIS OCURRE PRINCIPALMENTE EN EL MÚSCULO Y EN EL HÍGADO

La biosíntesis de glucógeno implica a la UDP-glucosa

Al igual que en la glucólisis, la glucosa se fosforila a glucosa-6-fosfato, catalizada por la **hexocinasa** en el músculo y **glucocinasa** en el hígado (**figura 18-1**). La glucosa-6-fosfato se isomeriza a glucosa-1-fosfato por la **fosfoglucomutasa**. La enzima en sí misma está fosforilada, y el grupo fosfato participa en una reacción reversible en la que la glucosa 1,6-bisfosfato es un intermediario. A continuación, la glucosa-1-fosfato reacciona con la uridina trifosfato (UTP, *uridine triphosphate*) para formar el nucleótido activo **uridina difosfato de glucosa** (**UDPGlc**, *uridine diphosphate glucose*) y pirofosfato (**figura 18-2**), catalizado por la **UDPGlc pirofosforilasa**. La reacción continúa en la dirección de la formación de UDPGlc porque la **pirofosfatasa** cataliza la hidrólisis de pirofosfato a 2× fosfato, eliminando así uno de los productos de la reacción. La UDPGlc pirofosforilasa tiene una K_m baja para glucosa-1-fosfato y está presente en cantidades relativamente grandes, por lo que no es un paso regulador en la síntesis de glucógeno.

Los pasos iniciales en la síntesis de glucógeno implican la proteína **glucogenina**, una proteína de 37 kDa que está glucosilada en un residuo de tirosina específico por UDPGlc. La glucogenina cataliza la transferencia de otros siete residuos de glucosa de UDPGlc, en el enlace 1 → 4, para formar un **cebador de glucógeno** que es el sustrato para la glucógeno sintasa. La glucogenina permanece en el núcleo del gránulo de glucógeno (véase figura 15-12).

CUADRO 18-1 Almacenamiento de carbohidratos en una persona de 70 kg

	Porcentaje de peso tisular	Peso del tejido	Contenido corporal (g)
Glucógeno hepático	5.0	1.8 kg	90
Glucógeno muscular	0.7	35 kg	245
Glucosa extracelular	0.1	10 L	10

La **glucógeno sintasa** cataliza la formación de un enlace glucósido entre C-1 de UDPGlc y C-4 de un residuo de glucosa terminal de glucógeno, liberando uridina disfosfato (UDP, *uridine disphosphate*). La adición de un residuo de glucosa a una cadena de glucógeno preexistente, o "cebador", se produce en el extremo exterior no reductor de la molécula, de modo que las ramas de la molécula de glucógeno se alargan a medida que se forman sucesivos enlaces 1 → 4 (**figura 18-3**).

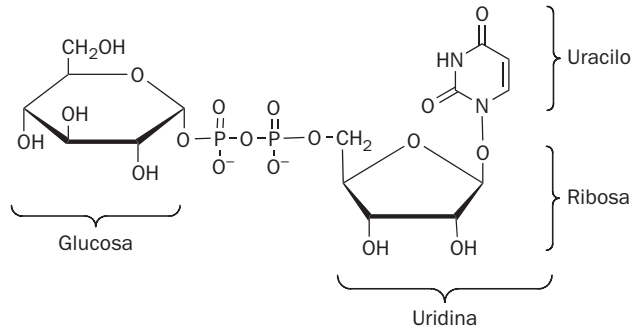


FIGURA 18-2 Uridina difosfato de glucosa (UDPGlc).

La ramificación involucra el desprendimiento de las cadenas existentes de glucógeno

Cuando una cadena en crecimiento contiene al menos 11 residuos de glucosa, la **enzima ramificada** transfiere una parte de la cadena 1 → 4 (al menos seis residuos de glucosa) a una cadena vecina para

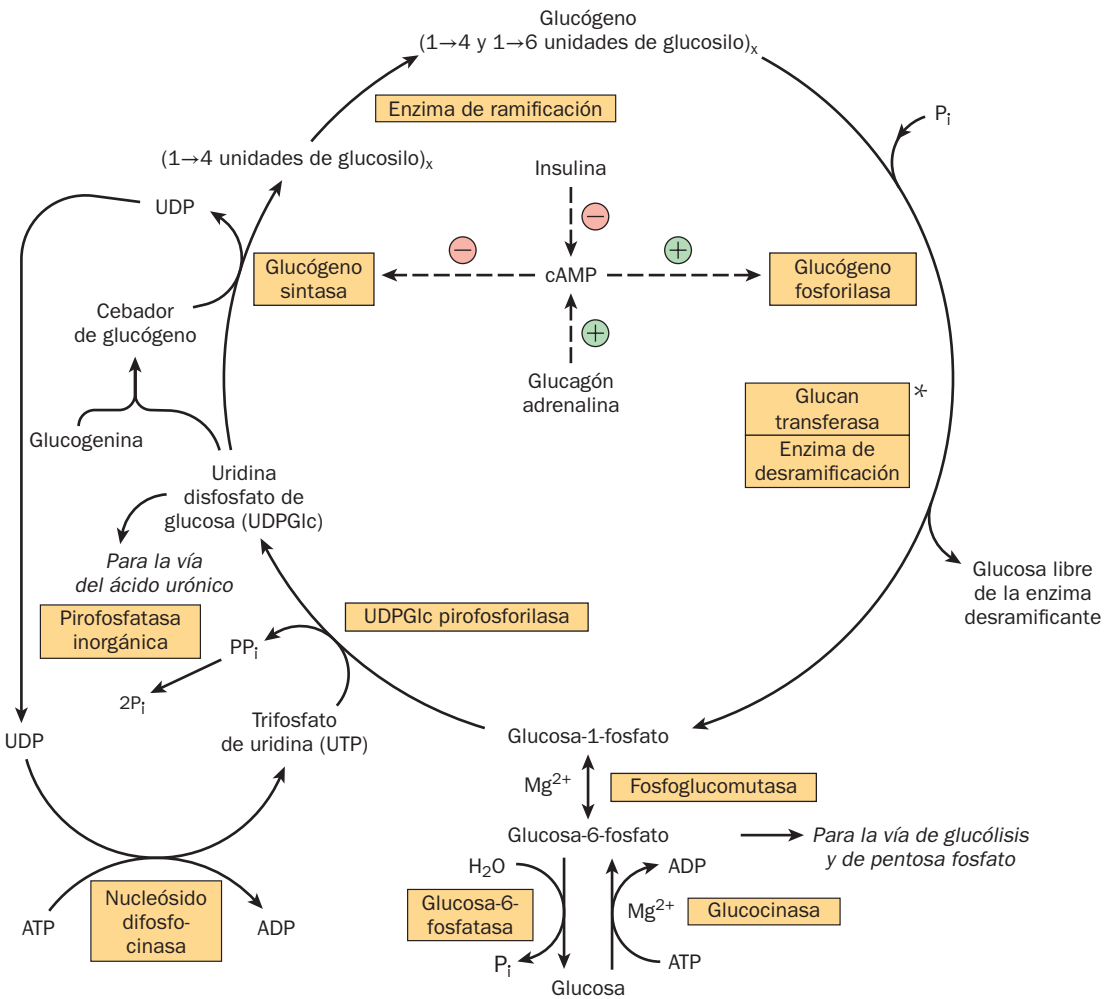


FIGURA 18-1 Vías de la glucogénesis y la glucogenólisis en el hígado. (⊕ estimulación; ⊖ inhibición.) La insulina disminuye el nivel de cAMP *cyclic adenosine monophosphate*): monofosfato de adenosina cíclico sólo después de que ha sido provocado por el glucagón o la adrenalina; es decir, antagoniza su acción. El glucagón actúa sobre el músculo cardiaco, pero no sobre el músculo esquelético. *La enzima glucan transferasa y la desramificación parecen ser dos actividades separadas de la misma enzima.

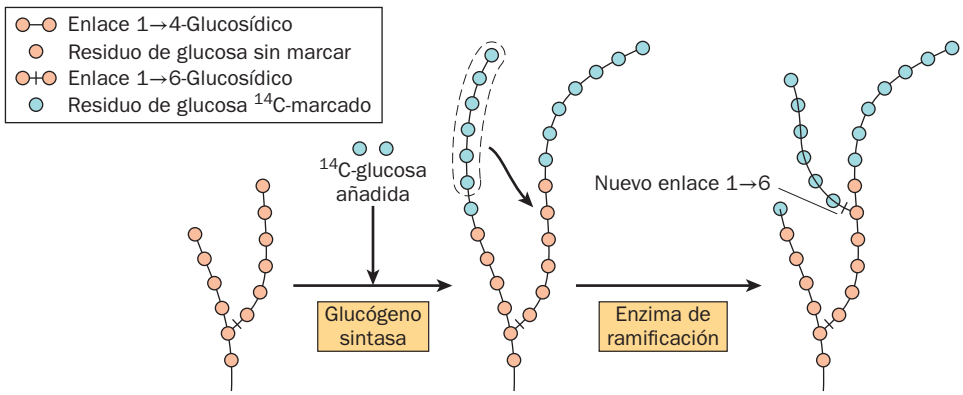


FIGURA 18-3 **La biosíntesis de glucógeno.** El mecanismo de ramificación se revela alimentando la glucosa marcada con ^{14}C y examinando el glucógeno hepático a intervalos.

formar un enlace 1 → 6, estableciendo un **punto de ramificación**. Las ramas crecen por adiciones de unidades de 1 → 4-glucosilo y ramificaciones adicionales.

LA GLUCOGENÓLISIS NO ES EL REVERSO DE LA GLUCOGÉNESIS, ES UNA VÍA SEPARADA

La **glucógeno fosforilasa** cataliza la etapa limitante de la velocidad en la glucogenólisis: la escisión fosforolítica de los enlaces 1 → 4 del glucógeno para producir glucosa-1-fosfato (**figura 18-4**). Existen diferentes isoenzimas de glucógeno fosforilasa en el hígado, músculo y cerebro, codificadas por diferentes genes. La glucógeno fosforilasa requiere fosfato de piridoxal (véase capítulo 44) como su coenzima. A diferencia de las reacciones del metabolismo de aminoácidos (véase capítulo 28), en el que el grupo aldehído de la coenzima es el grupo reactivo, en la fosforilasa es el grupo fosfato el que es catalíticamente activo.

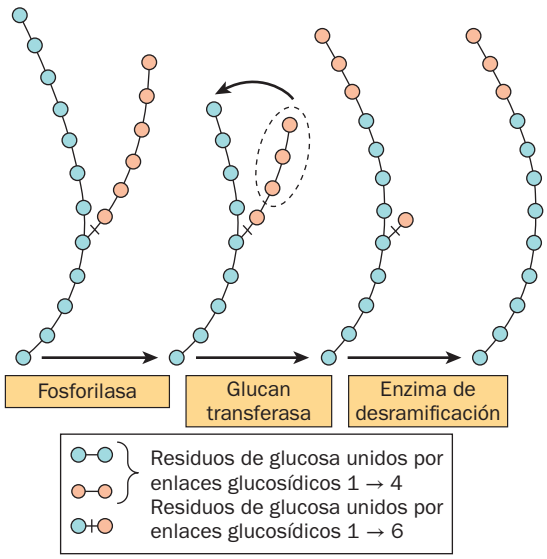


FIGURA 18-4 **Pasos en la glucogenólisis.**

Los residuos de glucosilo terminales de las cadenas más externas de la molécula de glucógeno se eliminan de modo secuencial hasta que quedan aproximadamente cuatro residuos de glucosa en cada lado de una rama 1 → 6 (figura 18-4). La **enzima desramificante** tiene dos sitios catalíticos en una sola cadena polipeptídica. Una es una glucan transferasa que transfiere una unidad trisacárida de una rama a la otra, exponiendo el punto de ramificación 1 → 6. La otra es una 1,6-glicosidasa que cataliza la hidrólisis del enlace 1 → 6-glucósido para liberar glucosa libre. La acción de fosforilasa adicional puede continuar. La acción combinada de la fosforilasa y estas otras enzimas conduce a la descomposición completa del glucógeno.

La reacción catalizada por la fosfoglucomutasa es reversible, de modo que la glucosa-6-fosfato se puede formar a partir de glucosa-1-fosfato. En el **hígado**, pero no en el músculo, la **glucosa-6-fosfatasa** cataliza la hidrólisis de glucosa-6-fosfato, produciendo glucosa que se exporta, lo que lleva a un aumento en la concentración de glucosa en sangre. La glucosa-6-fosfatasa se encuentra en la luz del retículo endoplásmico liso y los defectos genéticos del transportador de glucosa-6-fosfato pueden causar una variante de la enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo I (**cuadro 18-2**).

Los gránulos de glucógeno también pueden ser fagocitados por los **lisosomas**, donde la maltasa ácida cataliza la hidrólisis del glucógeno a glucosa. Esto puede ser especialmente importante en la homeostasis de la glucosa en los recién nacidos. La falta genética de maltasa ácida lisosomal causa la enfermedad de almacenamiento de glucógeno tipo II (enfermedad de Pompe, cuadro 18-2). El catabolismo lisosómico del glucógeno está bajo control hormonal.

EL AMP CÍCLICO INTEGRA LA REGULACION DE LA GLUCOGENÓLISIS Y LA GLUCOGÉNESIS

Las principales enzimas que controlan el metabolismo del glucógeno —la glucógeno fosforilasa y la glucógeno sintasa— están reguladas en direcciones opuestas por mecanismos alostéricos y modificación covalente por fosforilación reversible y desfosforilación de la proteína enzimática en respuesta a la acción de la hormona

CUADRO 18-2 Enfermedades de almacenamiento de glucógeno

Tipo	Nombre	Deficiencia de enzimas	Cuadro clínico
0	—	Glucógeno sintasa	Hipoglucemia; hipercetonemia; muerte precoz
Ia	Enfermedad de Von Gierke	Glucosa-6-fosfatasa	Acumulación de glucógeno en células de túbulos renales y hepáticos; hipoglucemia; acidemia láctica; cetosis; hiperlipemia
Ib	—	Transportador de glucosa-6-fosfato del retículo endoplásmico	Como tipo Ia; también neutropenia y función alterada de neutrófilos que conduce a infecciones recurrentes
II	Enfermedad de Pompe	Lisosomales $\alpha 1 \rightarrow 4$ y $\alpha 1 \rightarrow 6$ glucosidasa (maltasa ácida)	Acumulación de glucógeno en los lisosomas: variante de inicio juvenil, hipotonía muscular, muerte por insuficiencia cardiaca, a la edad de dos años; variante de inicio en adultos, distrofia muscular
IIIa	Dextrinosis de límite, enfermedad de Forbes o Cori	Enzima desramificante del hígado y los músculos	Hipoglucemia en ayunas; hepatomegalia en la infancia; acumulación de polisacárido ramificado característico (límite de dextrina); debilidad muscular
IIIb	Dextrinosis de límite	Enzima de desramificación del hígado	Como tipo IIIa, pero sin debilidad muscular
IV	Amilopectinosis, enfermedad de Andersen	Enzima de ramificación	Hepatoesplenomegalia; acumulación de polisacáridos con pocos puntos de ramificación; muerte por insuficiencia cardiaca o hepática antes de los cinco años
V	Deficiencia de miofosforilasa, síndrome de McArdle	Fosforilasa muscular	Pobre tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después del ejercicio
VI	Enfermedad de Hers	Fosforilasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado, hipoglucemia leve; generalmente buen pronóstico
VII	Enfermedad de Tarui	Fosfofrutocinasa del músculo y eritrocito	Pobre tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después del ejercicio, también anemia hemolítica
VIII		Fosforilasa cinasa del hígado	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado, hipoglucemia leve; generalmente buen pronóstico
IX		Fosforilasa cinasa de hígado y músculo	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado y el músculo; hipoglucemia leve; generalmente buen pronóstico
X		Proteína cinasa A dependiente de cAMP	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en el hígado

cAMP, monofosfato de adenosina cíclico.

(véase capítulo 9). La fosforilación de la glucógeno fosforilasa aumenta su actividad; la fosforilación de la glucógeno sintasa reduce su actividad.

La fosforilación se incrementa en respuesta a AMP cíclico (cAMP) (**figura 18-5**) formado a partir de trifosfato de adenosina (ATP, *adenosín trifosfato*) por **adenilil ciclasa** en la superficie interna de las membranas celulares en respuesta a hormonas como **adrenalina**, **noradrenalina** y **glucagón**. El cAMP es hidrolizado por la **fosfodiesterasa**, por lo que se termina la acción de la hormona; en el hígado la insulina aumenta la actividad de la fosfodiesterasa.

La regulación de glucógeno fosforilasa es diferente en hígado y músculo

En el hígado, el papel del glucógeno es proporcionar glucosa libre para exportar para mantener la concentración sanguínea de glucosa; en el músculo, el papel del glucógeno es proporcionar una fuente de glucosa-6-fosfato para la glucólisis en respuesta a la necesidad de ATP para la contracción muscular. En ambos tejidos, la enzima se activa por fosforilación catalizada por fosforilasa cinasa (para producir fosforilasa a) e inactivada por desfosforilación catalizada por fosfoproteína fosfatasa (para producir fosforilasa b), en respuesta a señales hormonales y de otro tipo.

Hay una anulación instantánea de este control hormonal. La fosforilasa a activa en ambos tejidos es inhibida alostéricamente por ATP y glucosa-6-fosfato; en el hígado, pero no en el músculo, la glucosa libre también es un inhibidor. La fosforilasa muscular difiere de la isoenzima hepática en que tiene un sitio de unión para 5′AMP (figura 18-5), que actúa como un activador alostérico de la forma b desfosforilada (inactiva) de la enzima. El 5′AMP actúa como una potente señal del estado de energía de la célula muscular; se forma cuando la concentración de ADP comienza a aumentar

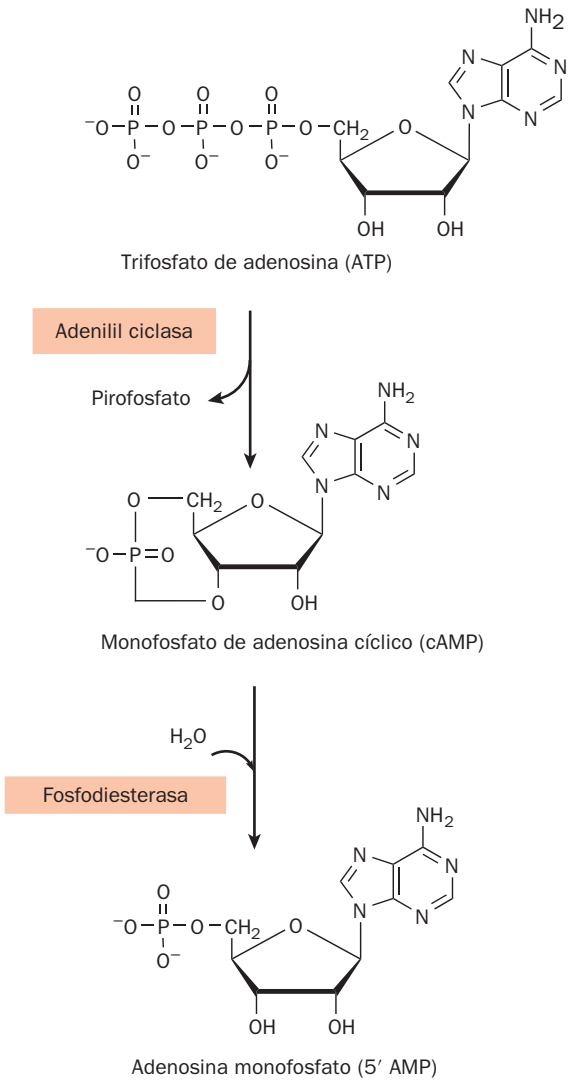


FIGURA 18-5 **La formación e hidrólisis de AMP cíclico (ácido 3',5'-adenílico, cAMP).**

(lo que indica la necesidad de un mayor metabolismo del sustrato para permitir la formación de ATP), como resultado de la reacción de la adenilato cinasa: 2 × ADP ↔ ATP + 5′AMP.

cAMP ACTIVA LA GLUCÓGENO FOSFORALASA

La fosforilasa cinasa se activa en respuesta a cAMP (**figura 18-6**). El aumento de la concentración de cAMP activa la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, que cataliza la fosforilación por ATP de la **fosforilasa cinasa inactiva b** a la **fosforilasa cinasa a activa**, que a su vez, fosforila la fosforilasa b a la fosforilasa a. En el hígado, el cAMP se forma en respuesta al glucagón, que se secreta en respuesta a la disminución de la glucosa en sangre. El músculo es insensible al glucagón; en el músculo, la señal de una mayor formación de cAMP es la acción de la noradrenalina, que se secreta en respuesta al miedo o al susto, cuando existe la necesidad de un aumento de la glucogenólisis para permitir una actividad muscular rápida.

El Ca^{2+} sincroniza la activación de glucógeno fosforilasa con la contracción muscular

La glucogenólisis en el músculo aumenta más de 100 veces al inicio de la contracción; la misma señal (aumento de la concentración de iones citosólicos de Ca^{2+}) es responsable del inicio de la contracción y la glucogenólisis. La fosforilasa cinasa muscular, que activa la glucógeno fosforilasa, es un tetrámero de cuatro subunidades diferentes, α, β, γ y δ. Las subunidades α y β contienen residuos de serina que están fosforilados por la proteína cinasa dependiente de cAMP. La subunidad δ es idéntica a la proteína de unión Ca^{2+} **calmodulina** (véase capítulo 42) y se une a cuatro Ca^{2+}. La unión de Ca^{2+} activa el sitio catalítico de la subunidad γ incluso cuando la enzima está en el estado b defosforilado; la forma a fosforilada sólo se activa completamente en presencia de altas concentraciones de Ca^{2+}.

La glucogenólisis en el hígado puede ser independiente del cAMP

En el hígado, hay activación de la glucogenólisis independiente de cAMP en respuesta a la estimulación de receptores **adrenérgicos** α_1 por la adrenalina y noradrenalina. Esto implica la movilización de Ca^{2+} en el citosol, seguido de la estimulación de una **fosforilasa cinasa sensible al Ca^{2+}/calmodulina**. La glucogenólisis independiente de cAMP también se activa con la vasopresina, la oxitocina y la angiotensina II, que actúan a través del calcio o de la vía del fosfatidilinositol bifosfato (véase figura 42-10).

La proteína fosfatasa-1 inactiva la glucógeno fosforilasa

Tanto la fosforilasa a como la fosforilasa cinasa a son desfosforiladas e inactivadas por la **proteína fosfatasa-1**. La proteína fosfatasa-1 es inhibida por una proteína, el **inhibidor-1**, que es activa sólo después de que ha sido fosforilada por la proteína cinasa dependiente de cAMP. Por tanto, el cAMP controla tanto la activación como la inactivación de la fosforilasa (figura 18-6). La **insulina** refuerza este efecto al inhibir la activación de la fosforilasa b. Lo hace indirectamente aumentando la absorción de glucosa, lo que conduce a una mayor formación de glucosa-6-fosfato, que es un inhibidor de la fosforilasa cinasa.

Las actividades de glucógeno sintasa y fosforilasa están reguladas recíprocamente

Existen diferentes isoenzimas de glucógeno sintasa en hígado, músculo y cerebro. Al igual que la fosforilasa, la glucógeno sintasa existe en estados fosforilados y no fosforilados, y el efecto de la fosforilación es el inverso al observado en la fosforilasa (**figura 18-7**). La **glucógeno sintetasa a** activa está desfosforilada y la **glucógeno sintasa b** inactiva está fosforilada.

Seis diferentes proteínas cinasas actúan sobre la glucógeno sintasa, y hay al menos nueve residuos de serina diferentes en la enzima que pueden fosforilarse. Dos de las proteínas cinasas son dependientes de Ca^{2+}/calmodulina (una de ellas es la fosforilasa cinasa). Otra cinasa es la proteína cinasa dependiente de cAMP, que permite que la acción de la hormona mediada por cAMP inhiba la síntesis de glucógeno sincrónicamente con la activación de la glucogenólisis.

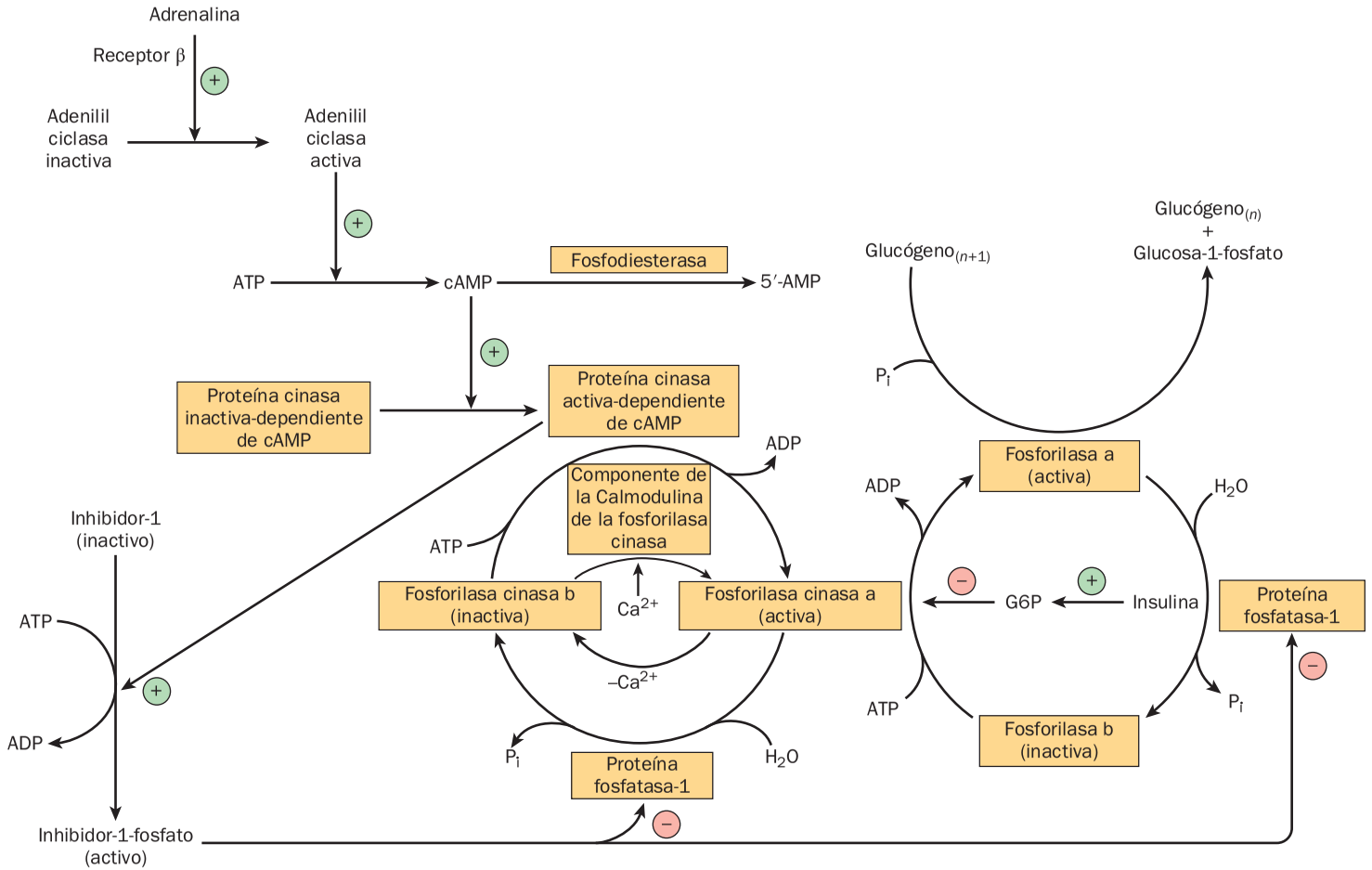


FIGURA 18-6 **Control de la glucógeno fosforilasa en el músculo.** La secuencia de reacciones dispuestas como una cascada permite la amplificación de la señal hormonal en cada paso. (G6P [*glucose-6-phosphate*]: glucosa-6-fosfato; *n*, cantidad de residuos de glucosa).

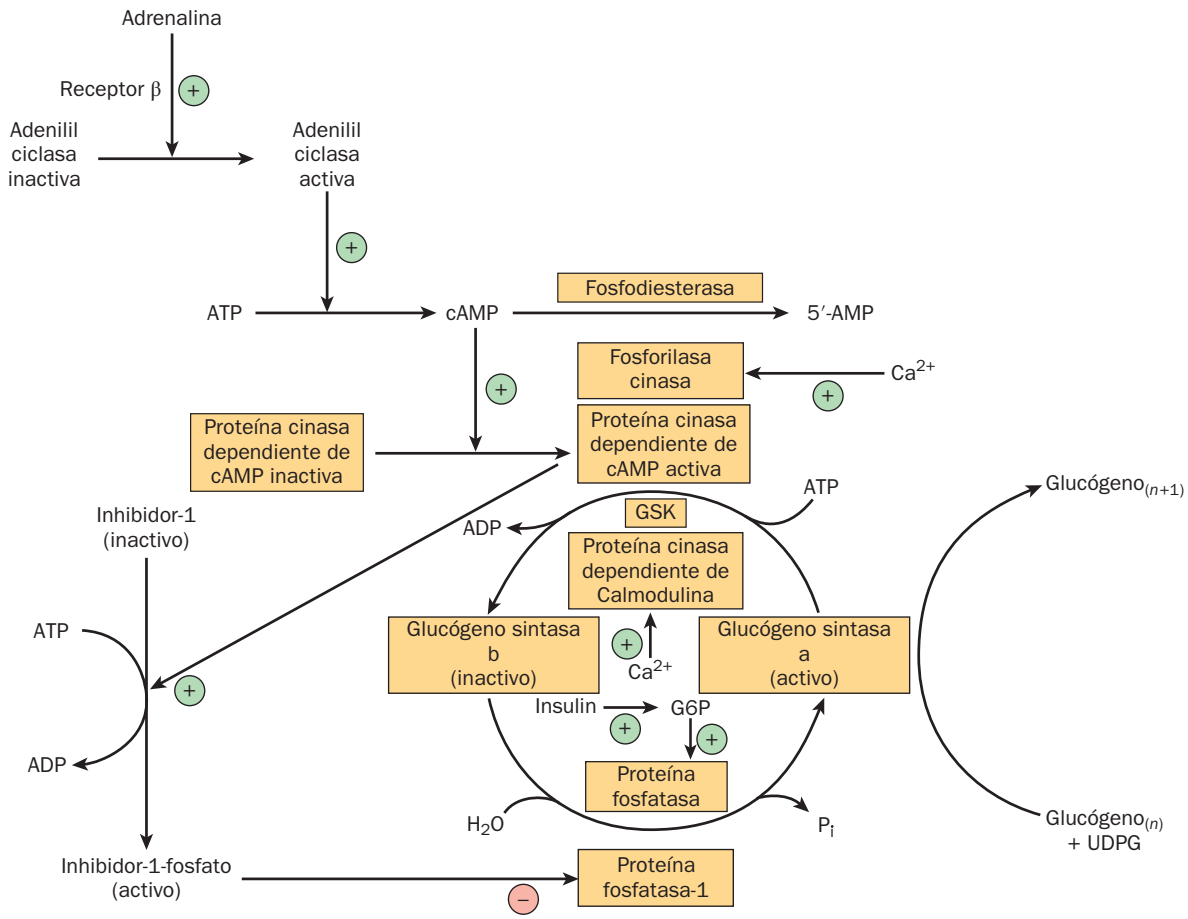


FIGURA 18-7 Control de la glucógeno sintasa en el músculo. (G6P, glucosa-6-fosfato; GSK [*glycogen synthase kinase*]: glucógeno sintasa cinasa; *n*, número de residuos de glucosa).

La insulina también promueve la glucogénesis en el músculo al mismo tiempo que inhibe la glucogenólisis aumentando las concentraciones de glucosa-6-fosfato, lo que estimula la desfosforilación y la activación de la glucógeno sintasa. La desfosforilación de la glucógeno-sintasa b se lleva a cabo mediante la proteína fosfatasa-1, que está bajo el control de la proteína cinasa dependiente de cAMP.

EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO ESTÁ REGULADO POR UN EQUILIBRIO EN LAS ACTIVIDADES ENTRE LA SÍNTESIS DEL GLUCÓGENO Y LA FOSFORILASA

Al mismo tiempo, como la fosforilasa se activa por un aumento en la concentración de cAMP (a través de la fosforilasa cinasa), la glucógeno sintasa se convierte a la forma inactiva; ambos efectos están mediados por la **proteína cinasa dependiente de cAMP (figura 18-8)**. Por tanto, la inhibición de la glucogenólisis mejora la glucogénesis neta, y la inhibición de la glucogénesis aumenta la glucogenólisis neta. Además, la desfosforilación de la fosforilasa a, la fosforilasa cinasa y la glucógeno sintasa b está catalizada por una única enzima con amplia especificidad-**proteína fosfatasa-1**. A su vez, la proteína fosfatasa-1 es inhibida por la proteína cinasa dependiente de cAMP a través del inhibidor-1. Por tanto, la glucogenólisis puede finalizar y la glucogénesis estimularse, o viceversa, de forma sincrónica, ya que ambos procesos dependen de la actividad de la proteína cinasa dependiente de cAMP. Tanto la fosforilasa cinasa como la glucógeno sintasa pueden fosforilarse reversiblemente en más de un sitio mediante cinasas y fosfatasas separadas. Estas fosforilaciones secundarias modifican la sensibilidad de los sitios primarios a la fosforilación y desfosforilación (**fosforilación multisitio**). Además, permiten que la insulina, por medio del aumento de glucosa-6-fosfato, tenga efectos que actúen recíprocamente a los del cAMP (figuras 18-6 y 18-7).

ASPECTOS CLÍNICOS

Las enfermedades de almacenamiento de glucógeno son hereditarias

La enfermedad de almacenamiento de glucógeno es un término genérico para describir un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por la deposición de un tipo anormal o cantidad de glucógeno en los tejidos, o la incapacidad de movilizar el glucógeno. Las principales enfermedades se resumen en el cuadro 18-2.

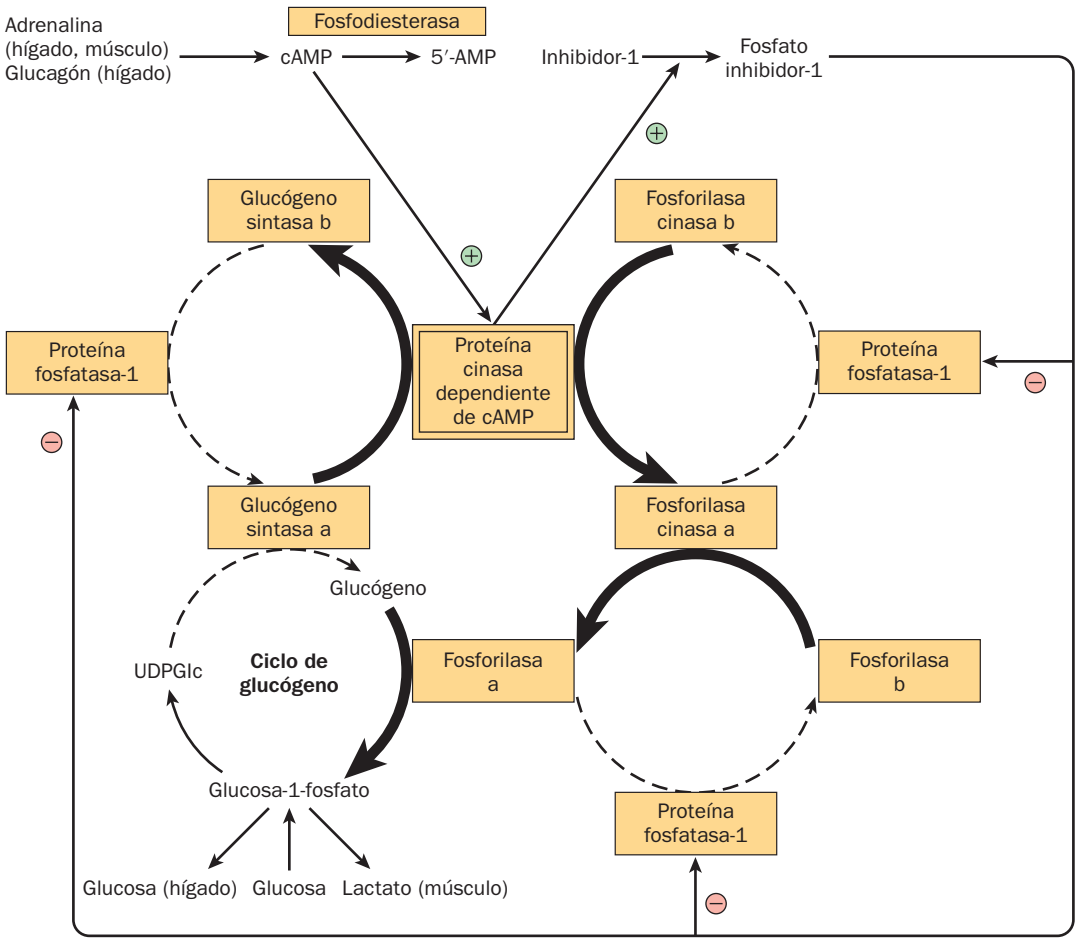


FIGURA 18-8 Control coordinado de la glucogenólisis y la glucogénesis por la proteína cinasa dependiente de cAMP. Las reacciones que conducen a la glucogenólisis como resultado de un aumento en las concentraciones de cAMP se muestran con flechas en negrita, y las que se inhiben mediante la activación de la proteína fosfatasa-1 se muestran con flechas discontinuas. Lo contrario ocurre cuando las concentraciones de cAMP disminuyen como resultado de la actividad de la fosfodiesterasa, lo que conduce a la glucogénesis.

RESUMEN

- El glucógeno representa el principal carbohidrato de almacenamiento en el cuerpo, principalmente en el hígado y el músculo.
- En el hígado, su función principal es proporcionar glucosa para los tejidos extrahepáticos. En el músculo, sirve principalmente como una fuente de combustible metabólico para su uso en el músculo. El músculo carece de glucosa-6-fosfatasa y no puede liberar glucosa libre del glucógeno.
- El glucógeno se sintetiza a partir de la glucosa por la vía de la glucogénesis. Se descompone por una vía separada, la glucogenólisis.
- El AMP cíclico integra la regulación de la glucogenólisis y la glucogénesis promoviendo la activación simultánea de la fosforilasa y la inhibición de la glucógeno sintasa. La insulina actúa recíprocamente inhibiendo la glucogenólisis y estimulando la glucogénesis.
- Las deficiencias heredadas de las enzimas del metabolismo del glucógeno en el hígado y el músculo causan enfermedades de almacenamiento de glucógeno.

CAPÍTULO

Gluconeogénesis y el control de la glucosa en sangre

19

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar la importancia de la gluconeogénesis en la homeostasis de la glucosa.
- Describir la vía de la gluconeogénesis, cómo se evitan las enzimas irreversibles de la glucólisis y cómo se regulan recíprocamente la glucólisis y la gluconeogénesis.
- Explicar cómo la concentración de glucosa en plasma se mantiene dentro de límites estrechos en los estados de alimentación y en ayuno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de la glucosa a partir de precursores que no son carbohidratos. Los principales sustratos son los aminoácidos glucogénicos (véase capítulo 29), lactato, glicerol y propionato. El hígado y el riñón son los principales tejidos gluconeogénicos; el riñón puede contribuir hasta en un 40% de la síntesis total de glucosa en ayunas y más en la inanición. Las enzimas gluconeogénicas clave se expresan en el intestino delgado, pero no está claro si el intestino produce una cantidad significativa de glucosa en ayunas, aunque el propionato derivado de la fermentación bacteriana intestinal de los carbohidratos es un sustrato para la gluconeogénesis en los enterocitos.

Un suministro de glucosa es necesario especialmente para el sistema nervioso y los eritrocitos. Después de un ayuno nocturno, la glucogenólisis (véase capítulo 18) y la gluconeogénesis hacen contribuciones casi iguales a la glucosa en sangre; a medida que se agotan las reservas de glucógeno, la gluconeogénesis se vuelve más importante de manera progresiva.

El fracaso de la gluconeogénesis suele ser fatal. La **hipoglucemia** causa disfunción cerebral, lo que puede llevar al coma y a la muerte. La glucosa también es importante para mantener concentraciones adecuadas de compuestos intermediarios del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16) incluso cuando los ácidos grasos son la principal fuente de acetil-CoA en los tejidos. Además, la gluconeogénesis elimina el lactato producido por los músculos y los eritrocitos, y el glicerol producido por el tejido adiposo. En los rumiantes, el propionato es el producto del metabolismo de los carbohidratos, y es un sustrato principal para la gluconeogénesis.

La gluconeogénesis excesiva ocurre en **pacientes críticamente enfermos** en respuesta a una lesión e infección, lo que contribuye a la **hiperglucemia** que se asocia con un mal resultado. La hiperglucemia conduce a cambios en la osmolalidad de los fluidos corporales, alteración del flujo sanguíneo, acidosis intracelular y aumento de la producción de radicales superóxidos (véase capítulo 45), lo que produce una alteración de la función endotelial y del sistema inmunitario y deterioro de la coagulación sanguínea. La gluconeogénesis excesiva también es un factor que contribuye a la hiperglucemia en la **diabetes tipo 2** debido a la disminución de la regulación negativa en respuesta a la insulina.

LA GLUCONEOGÉNESIS INVOLUCRA LA GLUCÓLISIS Y EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO, ADEMÁS DE ALGUNAS REACCIONES ESPECIALES

Las barreras termodinámicas evitan una reversión simple de la glucólisis

Tres reacciones que no se encuentran en equilibrio en la glucólisis (véase capítulo 17), catalizadas por la hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa, evitan la reversión simple de la glucólisis para la síntesis de glucosa (**figura 19-1**). Ellos son eludidos de la siguiente manera.

Piruvato y fosfoenolpiruvato

La reversión de la reacción catalizada por la piruvato cinasa en la glucólisis implica dos reacciones endotérmicas. La **piruvato carboxilasa** mitocondrial cataliza la carboxilación de piruvato en oxaloacetato, una reacción que requiere ATP en la que la vitamina biotina es la coenzima. La biotina se une al CO_2 del bicarbonato como carboxibiotina antes de la adición del CO_2 al piruvato (véase figura 44-14). El oxaloacetato resultante se reduce a malato, se exporta desde la mitocondria al citosol y allí se oxida de nuevo a oxaloacetato. Una segunda enzima, la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, cataliza la descarboxilación y la fosforilación de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato utilizando GTP como donante de fosfato. En el hígado y el riñón, la reacción de succinato tiocinasa en el ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16) produce GTP (en lugar de

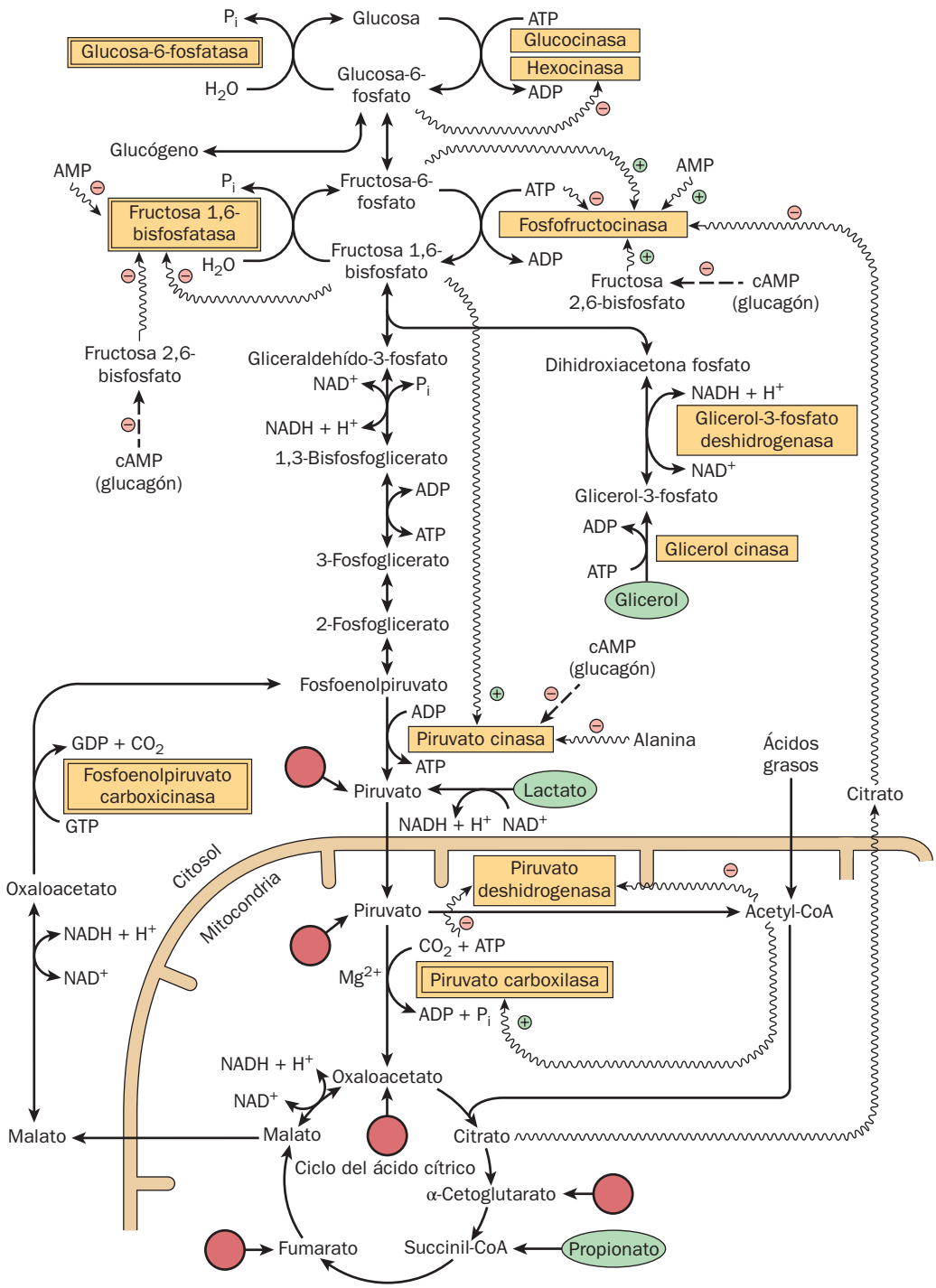


FIGURA 19-1 Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y la glucólisis en el hígado. Los puntos de entrada de los aminoácidos glucogénicos después de la transaminación están indicados por flechas extendidas desde los círculos (véase también figura 16-4). Las enzimas gluconeogénicas clave se muestran en cajas de doble borde. El ATP requerido para la gluconeogénesis es suministrado por la oxidación de ácidos grasos. El propionato es importante sólo en rumiantes. Las flechas con ejes ondulados significan efectos alostéricos; flechas con rayas, modificación covalente mediante fosforilación reversible. Las altas concentraciones de alanina actúan como una "señal gluconeogénica" al inhibir la glucólisis en la etapa de piruvato cinasa.

ATP como en otros tejidos), y este GTP se utiliza para la reacción de fosfoenolpiruvato carboxicinasa, proporcionando así un vínculo entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis, para evitar la eliminación excesiva de oxaloacetato por la gluconeogénesis, lo que perjudicaría la actividad del ciclo del ácido cítrico.

Fructosa 1,6-bisfosfato y fructosa-6-fosfato

La conversión de la fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa-6-fosfato, para la reversión de la glucólisis, es catalizada por la **fructosa 1,6-bisfosfatasa**. Su presencia determina si un tejido es capaz de sintetizar glucosa (o glucógeno) no sólo a partir de piruvato sino también de fosfatos de triosa. Está presente en el hígado, el riñón y el músculo esquelético, pero probablemente esté ausente en el corazón y el músculo liso.

Glucosa-6-fosfato y glucosa

La conversión de glucosa-6-fosfato a glucosa está catalizada por la **glucosa-6-fosfatasa**. Está presente en el hígado y el riñón, pero está ausente en el músculo, por lo que no puede exportar glucosa al torrente sanguíneo.

Glucosa-1-fosfato y glucógeno

La descomposición del glucógeno en glucosa-1-fosfato está catalizada por la fosforilasa. La síntesis de glucógeno involucra una vía diferente a través de uridina difosfato glucosa y **glucógeno sintasa** (véase figura 18-1).

Las relaciones entre la gluconeogénesis y la vía glucolítica se muestran en la figura 19-1. Después de la transaminación o desaminación, los aminoácidos glucogénicos producen piruvato o intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Por tanto, las reacciones descritas anteriormente pueden explicar la conversión tanto de lactato como de aminoácidos glucogénicos en glucosa o glucógeno.

El propionato es un importante precursor de la glucosa en los rumiantes; entra en la gluconeogénesis a través del ciclo del ácido cítrico. Después de la esterificación con CoA, el propionil-CoA se carboxila a D-metilmalonil-CoA, catalizada por **propionil-CoA carboxilasa**, una enzima dependiente de biotina (**figura 19-2**). La **metilmalonil-CoA racemasa** cataliza la conversión de D-metilmalonil-CoA en L-metilmalonil-CoA, que luego experimenta isomerización a succinil-CoA catalizada por **metilmalonil-CoA mutasa**. En los no rumiantes, incluidos los seres humanos, el propionato surge de la betaoxidación de ácidos grasos de cadena impar que ocurren en los lípidos de los rumiantes (véase capítulo 22), así como de la oxidación de la isoleucina y la cadena lateral del colesterol, y es (relativamente menor) sustrato para la gluconeogénesis. La metilmalonil-CoA mutasa es una enzima dependiente de la vitamina B_{12}, y en la deficiencia, el ácido metilmalónico se excreta en la orina (**aciduria metilmalónica**).

El glicerol se libera del tejido adiposo como resultado de la lipólisis de la lipoproteína triacilglicerol en el estado de alimentación; puede usarse para la reesterificación de ácidos grasos libres a triacilglicerol, o bien ser un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado. En estado de ayuno, el glicerol liberado de la lipólisis del tejido adiposo triacilglicerol se utiliza como sustrato para la gluconeogénesis en el hígado y los riñones.

LA GLUCÓLISIS Y LA GLUCONEOGÉNESIS COMPARTEN LA MISMA VÍA, PERO EN DIRECCIONES OPUESTAS, Y SON REGULADAS DE MANERA RECÍPROCA

Los cambios en la disponibilidad de los sustratos son responsables de la mayoría de los cambios en el metabolismo que actúan directa o indirectamente a través de cambios en la secreción de la hormona. Tres mecanismos son responsables de regular la actividad de las enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos: 1) cambios en la tasa de síntesis de enzimas, 2) modificación covalente por fosforilación reversible y 3) efectos alostéricos.

La inducción y la represión de las enzimas clave requieren varias horas

Los cambios en la actividad enzimática en el hígado que ocurren bajo diversas condiciones metabólicas se enumeran en el **cuadro 19-1**. Las enzimas involucradas catalizan reacciones fisiológicamente irreversibles y no en equilibrio. Los efectos por lo general se refuerzan porque la actividad de las enzimas que catalizan las reacciones en la dirección opuesta varían de forma recíproca (véase

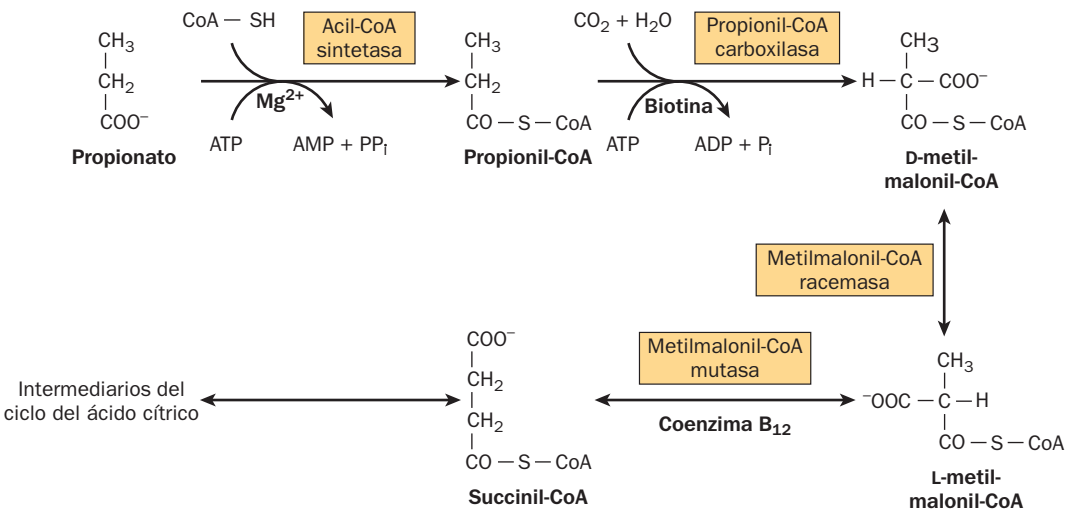


FIGURA 19-2 Metabolismo del propionato.

CUADRO 19-1 Enzimas reguladoras y adaptativas asociadas con el metabolismo de los carbohidratos

	Actividad en					
	Carbohidrato Alimentación	Ayuno y diabetes	Inductor	Represor	Activador	Inhibidor
Glucogenólisis, glucólisis y oxidación de piruvato						
Glucógeno sintasa	↑	↓			Insulina, glucosa-6-fosfato	Glucagón
Hexocinasa						Glucosa-6-fosfato
Glucocinasa	↑	↓	Insulina	Glucagón		
Fosfofructo cinasa-1	↑	↓	Insulina	Glucagón	5′AMP, fructosa-6-fosfato, fructosa 2,6-bisfosfato, P_i	Citrato, ATP, glucagón
Piruvato cinasa	↑	↓	Insulina, fructosa	Glucagón	Fructosa 1,6-bisfosfato, insulina	ATP, alanina, glucagón, noradrenalina
Piruvato deshidrogenasa	↑	↓			CoA, NAD +, insulina, ADP, piruvato	Acetil-CoA, NADH, ATP (ácidos grasos, cuerpos cetónicos)
Gluconeogénesis						
Piruvato carboxilasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, adrenalina	Insulina	Acetil-CoA	ADP
Fosfoenolpiruvato carboxicinasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, adrenalina	Insulina	Glucagón	
Glucosa-6-fosfatasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagón, adrenalina	Insulina		

figura 19-1). Las enzimas implicadas en la utilización de la glucosa (es decir, las de la glucólisis y la lipogénesis) se vuelven más activas cuando hay una superfluidez de glucosa, y en estas condiciones las enzimas de la gluconeogénesis tienen baja actividad. La insulina, segregada en respuesta al aumento de la glucosa en sangre, mejora la síntesis de las enzimas clave en la glucólisis. También antagoniza el efecto de los glucocorticoides y el cAMP estimulado por glucagón, que inducen la síntesis de las enzimas clave de la gluconeogénesis.

La modificación covalente por fosforilación reversible es rápida

El **glucagón** y la **adrenalina**, hormonas que responden a una disminución de la glucosa en sangre, inhiben la glucólisis y estimulan la gluconeogénesis en el hígado al aumentar la concentración de cAMP. Esto a su vez activa la proteína cinasa dependiente de cAMP, lo que lleva a la fosforilación e inactivación de la **piruvato cinasa**. También afectan la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato y, por tanto, la glucólisis y la gluconeogénesis, como se describe a continuación.

La modificación alostérica es instantánea

En la gluconeogénesis, la piruvato carboxilasa, que cataliza la síntesis de oxaloacetato a partir del piruvato, requiere acetil-CoA como un **activador alostérico**. La adición de acetil-CoA da como resultado un cambio en la estructura terciaria de la proteína, disminuyendo la K_m para el bicarbonato. Esto significa que como el acetil-CoA se forma a partir del piruvato, automáticamente asegura la provisión de oxaloacetato, al activar la piruvato carboxilasa. La activación de la piruvato carboxilasa y la inhibición recíproca de la piruvato deshidrogenasa por la acetil-CoA derivada de la oxidación de los ácidos grasos explican la acción de la oxidación de los ácidos grasos al evitar la oxidación de piruvato (y por tanto glucosa) y estimular la gluconeogénesis. La relación recíproca entre estas dos enzimas altera el destino metabólico del piruvato a medida que el tejido cambia de la oxidación de carbohidratos (glucólisis) a la gluconeogénesis durante la transición del estado de alimentación al estado de ayuno (véase figura 19-1). Un papel importante de la oxidación de ácidos grasos en la promoción de la gluconeogénesis es suministrar el ATP que se requiere.

La **fosfofructocinasa (fosfofructocinasa-1)** ocupa una posición clave en la regulación de la glucólisis y también está sujeta al control de retroalimentación. Es inhibida por el citrato y por las concentraciones intracelulares normales de ATP y se activa por 5′ AMP. En el [ATP] intracelular normal, la enzima se inhibe aproximadamente en un 90%; esta inhibición es revertida por 5′ AMP (**figura 19-3**).

El 5′ AMP actúa como un indicador del estado de energía de la célula. La presencia de adenilil cinasa en el hígado y en muchos otros tejidos permite un rápido equilibrio de la reacción

$$2ADP \leftrightarrow ATP + 5' AMP$$

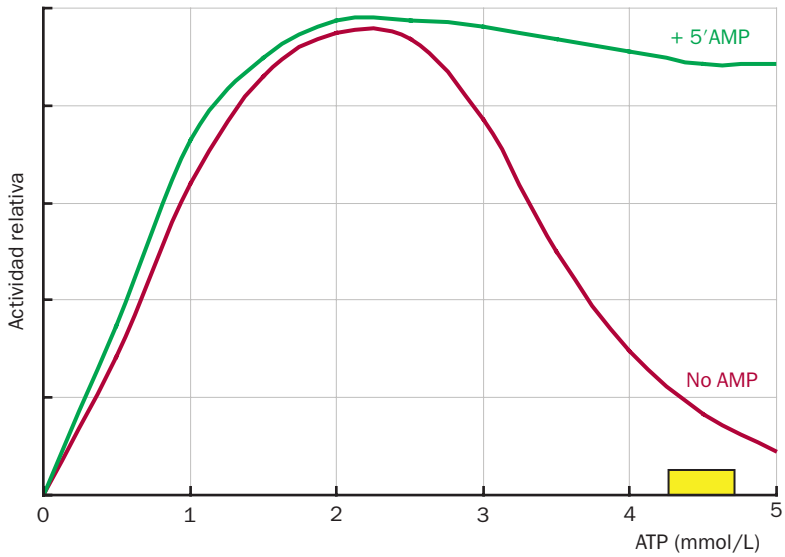


FIGURA 19-3 **La inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP y el alivio de la inhibición por ATP.** La barra amarilla muestra el rango normal de la concentración intracelular de ATP.

Por tanto, cuando se usa ATP en procesos que requieren energía, lo que resulta en la formación de ADP, [AMP] aumenta. Una disminución relativamente pequeña en [ATP] provoca un aumento de varias veces en [AMP], por lo que [AMP] actúa como un amplificador metabólico de un pequeño cambio en [ATP] y, por tanto, una señal sensible del estado de energía de la célula. La actividad de la fosfofructocinasa-1 está regulada en respuesta al estado energético de la célula para controlar la cantidad de carbohidratos sometidos a glucólisis antes de su entrada en el ciclo del ácido cítrico. Al mismo tiempo, AMP activa la glucógeno fosforilasa, por lo que aumenta la glucogenólisis. Una consecuencia de la inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP es una acumulación de glucosa-6-fosfato, que a su vez inhibe la absorción adicional de glucosa en los tejidos extrahepáticos mediante la inhibición de la hexocinasa.

La fructosa 2,6-bisfosfato juega un papel único en la regulación de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado

El activador alostérico positivo más potente de la fosfofructocinasa-1 y el inhibidor de la fructosa 1,6-bisfosfatasa en el hígado es la **fructosa 2,6-bisfosfato**. Alivia la inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP y aumenta la afinidad por la fructosa-6-fosfato. Inhibe la fructosa 1,6-bisfosfatasa al aumentar la K_m de la fructosa 1,6-bisfosfato. Su concentración se encuentra tanto en el sustrato (alostérico) como en el control hormonal (modificación covalente) (**figura 19-4**).

La fructosa 2,6-bisfosfato se forma por fosforilación de la fructosa-6-fosfato por la **fosfofructocinasa-2**. La misma proteína enzimática también es responsable de su degradación, ya que tiene actividad de **fructosa 2,6-bisfosfatasa**. Esta **enzima bifuncional** está bajo el control alostérico de fructosa-6-fosfato, que estimula la cinasa e inhibe la fosfatasa. Por tanto, cuando hay un suministro abundante de glucosa, aumenta la concentración de 2,6-bisfosfato de fructosa, estimulando la glucólisis al activar la fosfofructocinasa-1 e inhibiendo la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En el estado de ayuno, el glucagón estimula la producción de cAMP, activando la proteína cinasa dependiente de cAMP, que a su vez inactiva la fosfofructocinasa-2 y activa la 2,6-bisfosfatasa de la fructosa por fosforilación. Por tanto, la gluconeogénesis es estimulada por una disminución en la concentración de 2,6-bisfosfato de fructosa, que inactiva la fosfofructocinasa-1 y alivia la inhibición de la fructosa 1,6-bisfosfatasa. La xilulosa 5-fosfato, un intermediario de la vía de la pentosa del fosfato (véase capítulo 20) activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional, lo que aumenta la formación de 2,6-bisfosfato de fructosa e incrementa la tasa de glucólisis. Esto conduce a un mayor flujo a través de la glucólisis y la vía de la pentosa fosfato y el aumento de la síntesis de ácidos grasos (véase capítulo 23).

Los ciclos de sustrato (fútil) permiten un ajuste preciso y una respuesta rápida

Los puntos de control en la glucólisis y el metabolismo del glucógeno implican un ciclo de fosforilación y desfosforilación catalizado por la glucocinasa y la glucosa-6-fosfatasa; fosfofructocinasa-1 y fructosa 1,6-bisfosfatasa; piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa; y glucógeno sintasa y fosforilasa. Parecería obvio que estas enzimas opuestas están reguladas de tal forma que cuando los implicados en la glucólisis están activos, los implicados en la gluconeogénesis están inactivos, ya que de lo contrario habría ciclos entre intermediarios fosforilados y no fosforilados, con hidrólisis neta de ATP. Si bien esto es así, en el músculo, tanto la fosfofructocinasa como la fructosa 1,6-bisfosfatasa tienen alguna actividad en todo momento, de modo que existe cierta medida del ciclo del sustrato (desperdiciado). Esto permite el aumento muy rápido en la tasa de glucólisis necesaria para la contracción muscular. En reposo, la tasa de actividad de la fosfofructocinasa es aproximadamente 10 veces mayor que la de la fructosa 1,6-bisfosfatasa; en anticipación a la contracción muscular, la actividad de ambas enzimas aumenta: la fructosa 1,6-bisfosfatasa 10

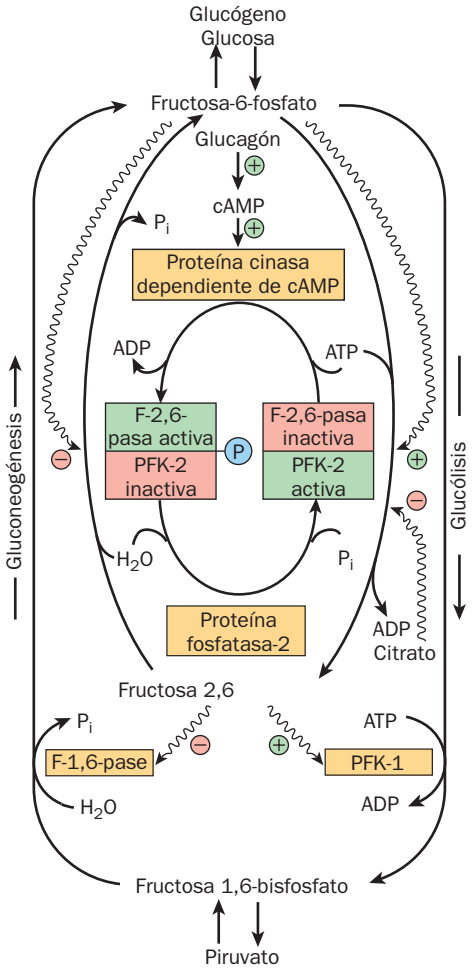


FIGURA 19-4 Control de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado por la fructosa 2,6-bisfosfato y la enzima bifuncional PFK-2/F-2,6-Pasa (6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa). (F-1,6-Pasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa; PFK-1, fosfofructocinasa-1 [6-fosfofructo-1-cinasa].) Las flechas con ejes ondulados indican efectos alostéricos.

veces más que la fosfofructocinasa, manteniendo la misma tasa neta de glucólisis. Al comienzo de la contracción muscular, la actividad de la fosfofructocinasa crece aún más, y la de la fructosa 1,6-bisfosfatasa disminuye, lo que incrementa la tasa neta de glucólisis (y por tanto la formación de ATP) hasta 1 000 veces.

LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE LA GLUCOSA ESTÁ REGULADA DENTRO DE LÍMITES ESTRECHOS

En el estado posabsorción, la concentración de glucosa en sangre se mantiene entre 4.5 y 5.5 mmol/L. Después de la ingestión de una comida con carbohidratos, puede aumentar de 6.5 a 7.2 mmol/L, y en la inanición, puede caer de 3.3 a 3.9 mmol/L. Una disminución repentina de la glucosa en sangre (p. ej., en respuesta a una sobredosis de insulina) causa convulsiones, debido a la dependencia del cerebro de un suministro de glucosa. Sin embargo, se pueden tolerar concentraciones mucho más bajas si la hipoglucemia se desarrolla lo suficientemente lenta como para que se produzca la adaptación. El nivel de glucosa en sangre en las aves es más alto (14 mmol/L) y en los rumiantes más bajo (~ 2.2 mmol/L en ovejas y 3.3 mmol/L en el ganado). Estos niveles normales inferiores parecen estar asociados con el hecho de que los rumiantes fermentan virtualmente todos los carbohidratos de la dieta a ácidos grasos de cadena corta, y éstos reemplazan en gran medida a la glucosa como principal combustible metabólico de los tejidos en estado de alimentación.

LA GLUCOSA EN SANGRE SE DERIVA DE LA DIETA, LA GLUCONEOGÉNESIS Y LA GLUCOGENÓLISIS

Los carbohidratos digeribles de la dieta producen glucosa, galactosa y fructosa que se transportan al hígado a través de la **vena porta hepática**. La galactosa y la fructosa se convierten fácilmente en glucosa en el hígado (véase capítulo 20).

La glucosa se forma a partir de dos grupos de compuestos que experimentan la gluconeogénesis (véanse figuras 16-4 y 19-1): 1) aquellos que implican una conversión neta directa a glucosa, incluyendo la mayoría de los **aminoácidos** y el **propionato** y 2) los que son los productos del metabolismo de la glucosa en los tejidos. Por tanto, el **lactato**, formado por la glucólisis en el músculo esquelético y los eritrocitos, se transporta al hígado y el riñón, donde reforma la glucosa, que vuelve a estar disponible a través de la circulación para la oxidación en los tejidos. Este proceso se conoce como el **ciclo Cori** o el **ciclo del ácido láctico** (**figura 19-5**).

En el estado de ayuno, hay una producción considerable de alanina del músculo esquelético, muy por encima de la cantidad de las proteínas musculares que están siendo catabolizadas. Está formada por la transaminación del piruvato producido por la glucólisis del glucógeno muscular, y se exporta al hígado, donde, después de la transaminación de vuelta a piruvato, es un sustrato para la gluconeogénesis. Este **ciclo de glucosa-alanina** (véase figura 19-5) proporciona una forma indirecta de utilizar el glucógeno muscular para mantener la glucosa en sangre en ayunas. El ATP requerido para la síntesis hepática de glucosa a partir del piruvato proviene de la oxidación de ácidos grasos.

La glucosa también se forma a partir del glucógeno hepático por glucogenólisis (véase capítulo 18).

Mecanismos metabólicos y hormonales regulan la concentración de glucosa en sangre

El mantenimiento de una concentración estable de glucosa en sangre es uno de los mecanismos homeostáticos mejor regulados, que involucra al hígado, los tejidos extrahepáticos y varias hormonas. Las células hepáticas son libremente permeables a la glucosa en cualquier dirección (a través del transportador GLUT 2), mientras que las células de tejidos extrahepáticos (aparte de los islotes β pancreáticos) son relativamente impermeables, y sus transportadores de glucosa unidireccionales están regulados por la insulina. Como resultado, la captación desde el torrente sanguíneo es el paso limitante

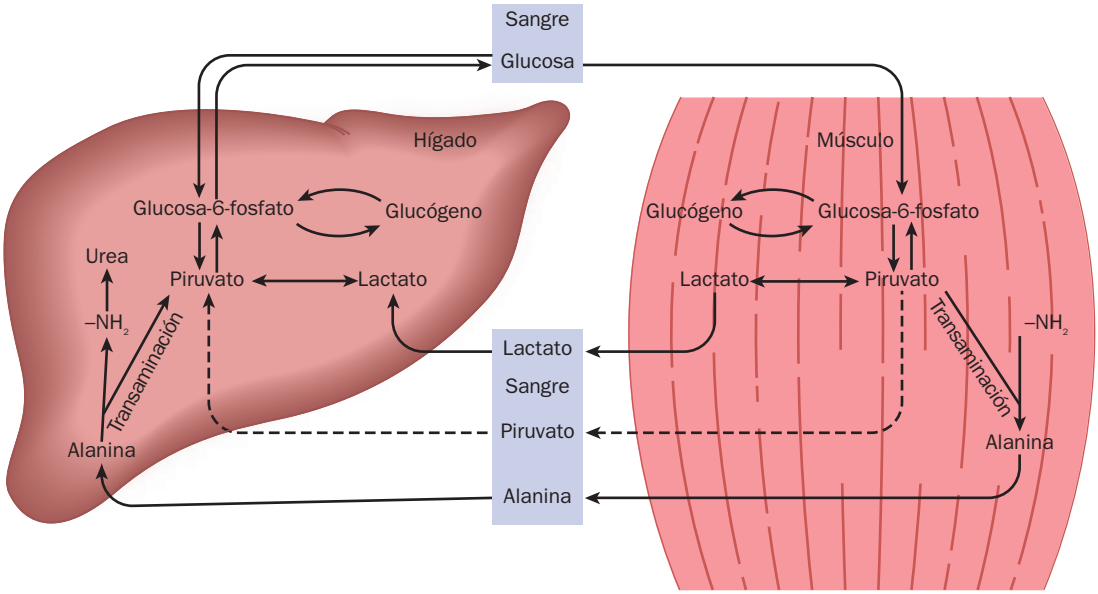


FIGURA 19-5 **Los ciclos de ácido láctico (ciclo Cori) y glucosa-alanina.**

en la utilización de la glucosa en los tejidos extrahepáticos. El papel de varias proteínas transportadoras de glucosa que se encuentran en las membranas celulares se muestra en el **cuadro 19-2**.

La glucocinasa es importante en la regulación de la glucosa en sangre después de una comida

La hexocinasa tiene una K_m baja para la glucosa, y en el hígado está saturada y actúa a una velocidad constante bajo todas las condiciones normales. Por tanto, actúa para garantizar una tasa adecuada de glucólisis para satisfacer las necesidades del hígado. La glucocinasa es una enzima alostérica con una K_m aparente (afinidad inferior) considerablemente mayor para la glucosa, por lo que su actividad aumenta con el incremento de la concentración de glucosa en la vena porta hepática (**figura 19-6**). En el estado de ayuno, la glucocinasa se encuentra en el núcleo. En respuesta a una mayor concentración intracelular de glucosa, migra al citosol, mediado por la proteína de unión a elementos de respuesta de carbohidratos (CREBP, *carbohydrate response element-binding protein*). Permite la absorción hepática de grandes cantidades de glucosa después de una comida con carbohidratos, para la síntesis de glucógeno y ácidos grasos, de modo que mientras la concentración de glucosa en la vena porta hepática puede alcanzar los 20 mmol/L después de una comida, la que deja el hígado en la circulación periférica normalmente no excede de 8 a 9 mmol/L. La glucocinasa está ausente del hígado de los rumiantes, que tienen poca glucosa que ingresa a la circulación portal desde los intestinos.

A concentraciones normales de glucosa en sangre periférica (4.5 a 5.5 mmol/L), el hígado es un productor neto de glucosa. Sin embargo, a medida que aumenta el nivel de glucosa, cesa la producción de glucosa y se produce una absorción neta.

CUADRO 19-2 **Principales transportadores de glucosa**

	Ubicación del tejido	Funciones
Transportadores bidireccionales facilitadores		
GLUT 1	Cerebro, riñón, colon, placenta, eritrocitos	La absorción de glucosa
GLUT 2	Hígado, célula β pancreática, intestino delgado, riñón	Captación o liberación rápida de glucosa
GLUT 3	Cerebro, riñón, placenta	La absorción de glucosa
GLUT 4	Corazón y músculo esquelético, tejido adiposo	Absorción de glucosa estimulada por la insulina
GLUT 5	Intestino delgado	Absorción de fructosa
Transportador unidireccional dependiente de sodio		
SGLT 1	Intestino delgado y riñón	Consumo activo de glucosa contra un gradiente de concentración

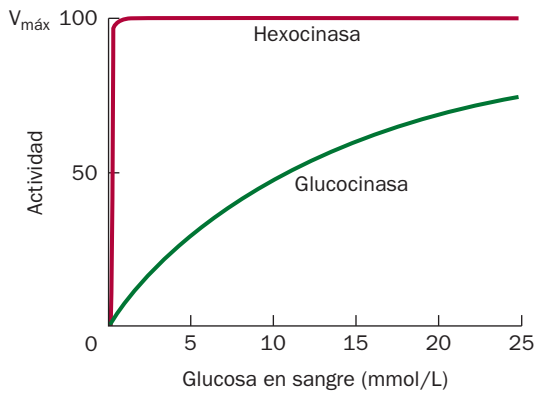


FIGURA 19-6 Variación en la actividad de fosforilación de la glucosa de la hexocinasa y la glucocinasa con el aumento de la concentración de glucosa en sangre. La K_m para la glucosa de la hexocinasa es 0.05 mmol/L y de la glucocinasa es 10 mmol/L.

La insulina y el glucagón desempeñan un papel central en la regulación de la glucosa en sangre

Además de los efectos directos de la hiperglucemia en la mejora de la absorción de glucosa en el hígado, la hormona insulina desempeña un papel central en la regulación de la glucosa en sangre. Es producida por las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas en respuesta a la hiperglucemia. Las células del betaislote son libremente permeables a la glucosa a través del transportador GLUT 2, y la glucosa es fosforilada por la glucocinasa. Por tanto, el aumento de la glucosa en sangre incrementa el flujo metabólico a través de la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico y la generación de ATP. El aumento de [ATP] inhibe los canales de K^+ sensibles al ATP, lo que provoca la despolarización de la membrana celular, que aumenta la afluencia de Ca^{2+} a través de los canales de Ca^{2+} sensibles al voltaje, estimulando la exocitosis de la insulina. Por tanto, la concentración de insulina en la sangre es paralela a la de la glucosa en sangre. Otras sustancias que causan la liberación de insulina del páncreas incluyen aminoácidos, ácidos grasos no esterificados, cuerpos cetónicos, glucagón, secretina y sulfonilureas, tolbutamida y gliburida. Estos medicamentos se usan para estimular la secreción de insulina en la diabetes mellitus tipo 2 a través de los canales de K^+ sensibles al ATP. La adrenalina y la noradrenalina bloquean la liberación de insulina. La insulina actúa para reducir la glucosa en sangre de forma inmediata mejorando el transporte de glucosa al tejido adiposo y al músculo mediante el reclutamiento de transportadores de glucosa (GLUT 4) desde el interior de la célula a la membrana plasmática. Aunque no afecta la captación de glucosa en el hígado de manera directa, la insulina mejora la absorción a largo plazo como resultado de sus acciones sobre las enzimas que controlan la glucólisis, la glucogénesis y la gluconeogénesis (véanse capítulo 18 y cuadro 19-1).

El **glucagón** es la hormona producida por las células α de los islotes pancreáticos en respuesta a la hipoglucemia. En el hígado, estimula la glucogenólisis activando la glucógeno fosforilasa. A diferencia de la adrenalina, el glucagón no tiene un efecto sobre la fosforilasa muscular. El glucagón también mejora la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y lactato. En todas estas acciones, el glucagón actúa mediante la generación de cAMP (cuadro 19-1). Tanto la glucogenólisis hepática como la gluconeogénesis contribuyen al **efecto hiperglucémico** del glucagón, cuyas acciones se oponen a las de la insulina. La mayor parte del glucagón endógeno (y la insulina) se elimina de la circulación por el hígado (**cuadro 19-3**).

Otras hormonas afectan la glucosa en sangre

La **glándula hipofisaria anterior** secreta hormonas que tienden a elevar la glucosa en sangre y, por tanto, antagonizan la acción de la insulina. Éstas son la hormona del crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, *adrenocorticotropic hormone*) y posiblemente otras hormonas "diabetogénicas". La hipoglucemia estimula la secreción de la hormona de crecimiento; disminuye la captación de glucosa en el músculo. Parte de este efecto puede ser indirecto, ya que estimula la movilización de ácidos grasos no esterificados del tejido adiposo, que a su vez inhiben la utilización de la glucosa. Los **glucocorticoides** (11-oxiesteroides) son secretados por la corteza suprarrenal, y también se sintetizan de forma no regulada en el tejido adiposo. Actúan para aumentar la gluconeogénesis como resultado del catabolismo hepático potenciado de los aminoácidos, debido a la inducción de aminotransferasas (y otras enzimas como la triptófano dioxigenasa) y las enzimas clave de la gluconeogénesis. Además, los glucocorticoides inhiben la utilización de la glucosa en los tejidos extrahepáticos. En todas estas acciones, los glucocorticoides actúan de forma antagónica a la insulina. Varias **citocinas** secretadas por macrófagos que infiltran el tejido adiposo también tienen acciones antagonistas a la insulina; junto con los glucocorticoides secretados por el tejido adiposo, esto explica la resistencia a la insulina que comúnmente ocurre en las personas obesas.

CUADRO 19-3 Respuestas de los tejidos a la insulina y el glucagón

	Hígado	Tejido adiposo	Músculo
Aumentado por la insulina	Síntesis de ácidos grasos Síntesis de glucógeno Síntesis de proteínas	La absorción de glucosa Síntesis de ácidos grasos	La absorción de glucosa Síntesis de glucógeno Síntesis de proteínas
Disminuido por la insulina	Cetogénesis Gluconeogénesis	Lipólisis	
Aumentado por el glucagón	Glucogenólisis Gluconeogénesis Cetogénesis	Lipólisis	

La **adrenalina** es secretada por la médula suprarrenal como resultado de estímulos estresantes (miedo, excitación, hemorragia, hipoxia, hipoglucemia, etc.) y conduce a la glucogenólisis en el hígado y en el músculo debido a la estimulación de la fosforilasa mediante la generación de cAMP. En el músculo, la glucogenólisis produce un aumento de la glucólisis, mientras que en el hígado produce la liberación de glucosa al torrente sanguíneo.

ASPECTOS CLÍNICOS ADICIONALES

La glucosuria ocurre cuando se excede el umbral renal para la glucosa

Cuando la concentración de glucosa en sangre aumenta por encima de 10 mmol/L, el riñón también ejerce un efecto regulador (pasivo). La glucosa es filtrada de manera continua por los glomérulos, pero normalmente se reabsorbe de modo completo en los túbulos renales mediante transporte activo. La capacidad del sistema tubular para reabsorber glucosa está limitada a una velocidad de alrededor de 2 mmol/min, y en la hiperglucemia (como ocurre en la diabetes mellitus mal controlada), el filtrado glomerular puede contener más glucosa que la que puede reabsorber, lo que produce **glucosuria** cuando el **umbral renal** para la glucosa se excede.

La hipoglucemia puede ocurrir durante el embarazo y en el recién nacido

Durante el embarazo, el consumo de glucosa fetal aumenta y existe un riesgo de hipoglucemia materna y posiblemente fetal, en especial si hay intervalos largos entre las comidas o durante la noche. Además, los bebés prematuros y con bajo peso al nacer son más susceptibles a la hipoglucemia, ya que tienen poco tejido adiposo para proporcionar ácidos grasos no esterificados. Las enzimas de la gluconeogénesis pueden no estar desarrolladas del todo en este momento, y la gluconeogénesis es de todos modos dependiente de un suministro de ácidos grasos no esterificados para la formación de ATP. El poco glicerol, que de manera normal se liberaría del tejido adiposo, está disponible para la gluconeogénesis.

La capacidad de utilizar glucosa puede determinarse midiendo la tolerancia a la glucosa

La tolerancia a la glucosa es la capacidad de regular la concentración de glucosa en sangre después de la administración de una dosis de prueba de glucosa (normalmente 1 g/kg de peso corporal) (**figura 19-7**).

La **diabetes mellitus** (tipo 1 o diabetes mellitus insulinodependiente [IDDM, *insulin-dependent diabetes mellitus*]) se caracteriza por una alteración de la tolerancia a la glucosa como resultado de la disminución de la secreción de insulina debido a la destrucción progresiva de las células de los betaislotes pancreáticos. La tolerancia a la glucosa también se ve afectada en la diabetes mellitus tipo 2 (diabetes no insulino-dependiente [NIDDM, *non-insulin-dependent diabetes mellitus*]) como resultado de la sensibilidad reducida de los tejidos a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina asociada con la obesidad (y en especial la obesidad abdominal) que conduce al desarrollo de hiperlipidemia, a continuación, la aterosclerosis y la enfermedad coronaria, así como la diabetes manifiesta, se conoce como **síndrome metabólico**. La tolerancia alterada a la glucosa también ocurre en condiciones en las que el hígado está dañado, en algunas infecciones y en respuesta a algunos fármacos, así como en condiciones que provocan hiperactividad de la glándula hipofisaria o de la corteza suprarrenal debido a las hormonas secretadas por estas glándulas que antagonizan la acción de la insulina.

La administración de insulina (como en el tratamiento de la diabetes mellitus) reduce la concentración de glucosa en sangre y au-

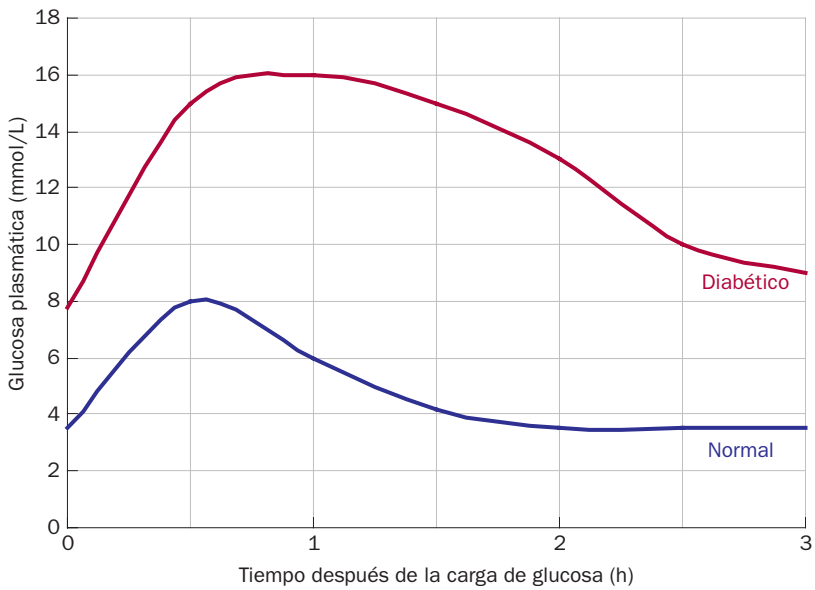


FIGURA 19-7 Prueba de tolerancia a la glucosa. Curvas de glucosa en sangre de una persona normal y diabética después de la administración oral de 1 g de glucosa/kg de peso corporal. Tenga en cuenta la concentración elevada inicial en el diabético en ayunas. Un criterio de normalidad es el retorno al valor inicial en dos horas.

menta su utilización y almacenamiento en el hígado y los músculos como glucógeno. Un exceso de insulina puede causar **hipoglucemia**, lo que produce convulsiones e incluso la muerte, a menos que se administre glucosa con prontitud. Se observa una mayor tolerancia a la glucosa en la insuficiencia hipofisaria o adrenocortical, atribuible a una disminución en el antagonismo a la insulina por las hormonas normalmente secretadas por estas glándulas.

El costo energético de la gluconeogénesis explica por qué las dietas muy bajas en carbohidratos promueven la pérdida de peso

Las dietas muy bajas en carbohidratos, que proporcionan sólo 20 g por día de carbohidratos o menos (en comparación con una ingesta deseable de 100-120 g/día), pero que permiten el consumo ilimitado de grasas y proteínas, se han promovido como un régimen eficaz para perder peso, aunque tales dietas son contrarias a todos los consejos sobre una dieta prudente para la salud. Dado que existe una demanda continua de glucosa, habrá una cantidad considerable de gluconeogénesis a partir de aminoácidos; el alto costo asociado de ATP se debe cumplir con la oxidación de los ácidos grasos.

RESUMEN

- La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Es de particular importancia cuando los carbohidratos no están disponibles en la dieta. Los sustratos principales son aminoácidos, lactato, glicerol y propionato.
- La vía de la gluconeogénesis en el hígado y el riñón utiliza aquellas reacciones en la glucólisis que son reversibles más cuatro reacciones adicionales que eluden las reacciones irreversibles que no están en equilibrio.
- Como la glucólisis y la gluconeogénesis comparten la misma vía pero operan en direcciones opuestas, sus actividades deben regularse recíprocamente.
- El hígado regula la concentración de glucosa en sangre después de una comida porque tiene alta la glucocinasa K_m que promueve el aumento de la utilización hepática de glucosa.
- La insulina se secreta como una respuesta directa a la hiperglucemia; estimula al hígado a almacenar glucosa como glucógeno y aumenta la absorción de glucosa en los tejidos extrahepáticos.
- El glucagón se secreta como respuesta a la hipoglucemia y activa tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis en el hígado, lo que provoca la liberación de glucosa a la sangre.

CAPÍTULO

La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de las hexosas

20

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir la vía de la pentosa fosfato y sus funciones como fuente del NADPH y de la ribosa para la síntesis de nucleótidos.
- Describir la vía del ácido urónico y su importancia para la síntesis del ácido glucurónico para las reacciones de conjugación y de la vitamina C (en animales, en los que no es una vitamina).
- Describir y explicar las consecuencias de las ingestas grandes de fructosa.
- Describir la síntesis e importancia fisiológica de la galactosa.
- Explicar las consecuencias de los defectos genéticos de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (favismo), la vía del ácido urónico (pentosuria esencial), y del metabolismo de la fructosa y la galactosa.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La vía de la pentosa fosfato es una ruta alternativa para el metabolismo de la glucosa. No conduce a la formación del ATP, pero tiene dos funciones principales: 1) la formación del **NADPH** para la síntesis de los ácidos grasos (véase capítulo 23) y los esteroides (véase capítulo 26), y el mantenimiento del glutatión reducido para la actividad antioxidante, y 2) la síntesis de **ribosa** para la formación de nucleótidos y ácidos nucleicos (véase capítulo 32). La glucosa, la fructosa y la galactosa son las principales hexosas absorbidas desde el tracto gastrointestinal, provenientes de la ingestión de almidón, la sacarosa y la lactosa, respectivamente. La fructosa y la galactosa se pueden convertir en glucosa, principalmente en el hígado.

La deficiencia genética de la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa**, la primera enzima de la vía de la pentosa fosfato, provoca hemólisis aguda, dando lugar a la **anemia hemolítica**. El ácido glucurónico se sintetiza a partir de la glucosa a través de la **vía del ácido urónico**, de menor importancia cuantitativa, pero de gran significación para la conjugación y la excreción de los metabolitos y productos químicos externos (los xenobióticos, véase capítulo 47) como los **glucurónidos**. Una deficiencia en la vía conduce a la condición de **pentosuria esencial**. La falta de una enzima de la vía (gulonolactona oxidasa) en los primates y algunos otros animales explica por qué el **ácido ascórbico** (la vitamina C, véase capítulo 44) es un requisito dietético para los seres humanos, pero no para la mayoría de los otros mamíferos. Las deficiencias en las enzimas del metabolismo de la fructosa y la galactosa conducen a enfermedades metabólicas como la **fructosuria esencial**, la **intolerancia hereditaria a la fructosa** y la **galactosemia**.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO FORMA NADPH Y RIBOSA FOSFATO

La vía de la pentosa fosfato (derivada del monofosfato de hexosa, **figura 20-1**) es una vía más compleja que la glucólisis (véase capítulo 17). Tres moléculas de glucosa-6-fosfato dan lugar a tres moléculas de CO_2 y tres de azúcares de cinco carbonos. Éstos se reorganizan para regenerar dos moléculas de glucosa-6-fosfato y una molécula del intermediario glucolítico, gliceraldehído-3-fosfato. Dado que dos moléculas de gliceraldehído-3-fosfato pueden regenerar la glucosa 6-fosfato, la vía puede justificar la oxidación completa de la glucosa.

LAS REACCIONES DE LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO OCURREN EN EL CITOSOL

Al igual que la glucólisis, las enzimas de la vía de la pentosa fosfato son citosólicas. A diferencia de la glucólisis, la oxidación se logra por la deshidrogenación usando el **$NADP^+$**, y no el **NAD^+**, como el receptor de hidrógeno. La secuencia de reacciones de la vía se puede dividir en dos fases: una **fase oxidativa irreversible** y una **fase no oxidativa reversible**. En la primera fase, la glucosa-6-fosfato sufre deshidrogenación y descarboxilación para producir una pentosa, la ribulosa-5-fosfato. En la segunda fase, la ribulosa-5-fosfato se convierte de nuevo en la glucosa-6-fosfato mediante una serie de

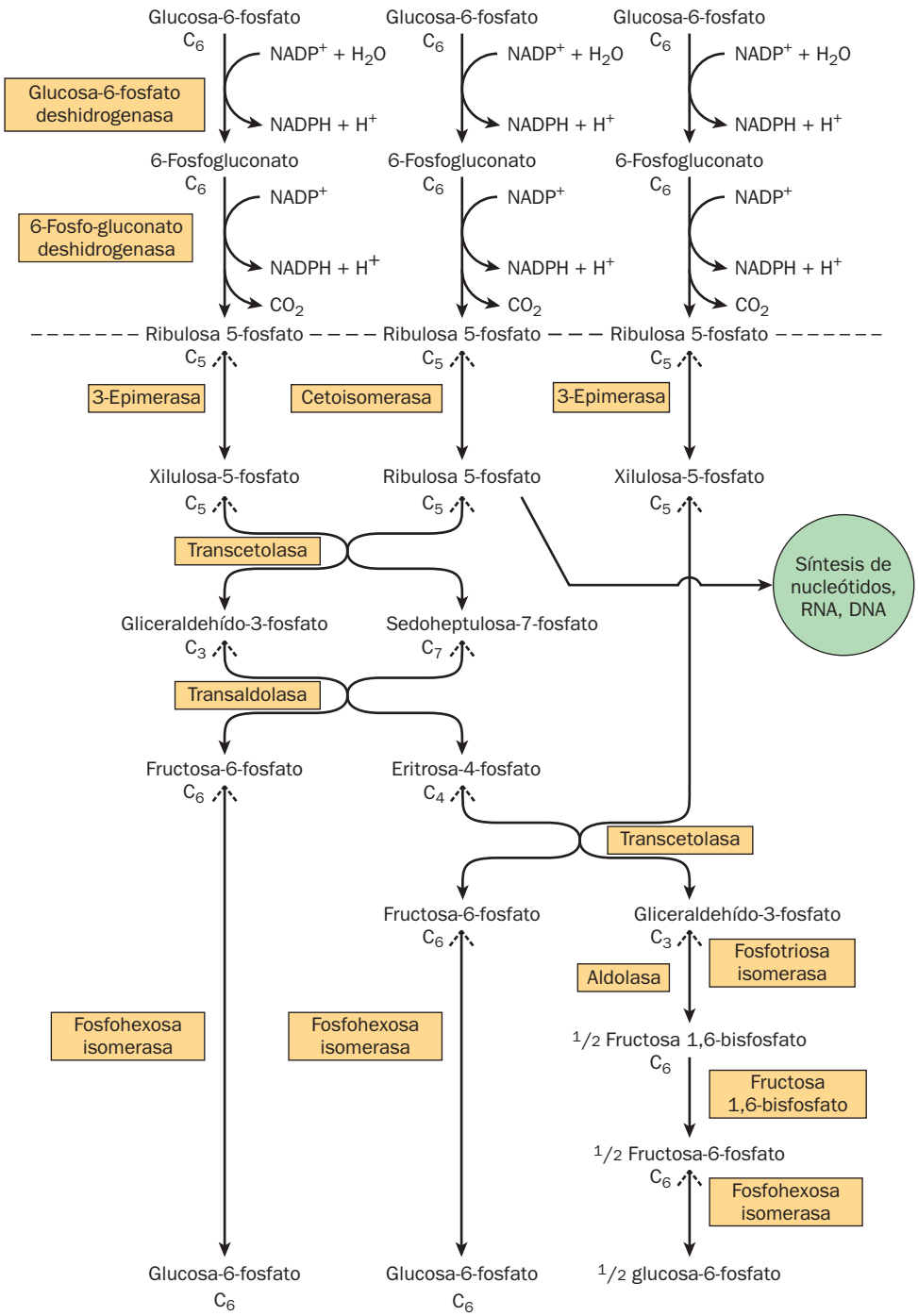


FIGURA 20-1 Diagrama de flujo de la vía de la pentosa fosfato y sus conexiones con la vía de la glucólisis. La vía completa, como se indica, consta de tres ciclos interconectados, en los que la glucosa-6-fosfato es a la vez el sustrato y el producto final. Las reacciones por encima de la línea discontinua son irreversibles, mientras que todas las reacciones bajo esa línea son libremente reversibles, aparte de las catalizadas por la fructosa 1,6-bisfosfatasa.

reacciones que involucran principalmente dos enzimas: la **transcetolasa** y la **transaldolasa** (figura 20-1).

La fase oxidativa genera el NADPH

La deshidrogenación de la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato ocurre a través de la formación de 6-fosfogluconolactona, catalizada por la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa**, una enzima dependiente del NADP (figuras 20-1 y **20-2**). La hidrólisis de la 6-fosfogluconolactona se logra mediante la enzima **gluconolactona hidrolasa**. Una segunda etapa oxidativa se cataliza por la **6-fosfogluconato deshidrogenasa**, que también requiere del $NADP^+$ como receptor de hidrógeno. La descarboxilación forma la cetopentosa ribulosa 5-fosfato.

En el retículo endoplásmico, una isoenzima de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la hexosa-6-fosfato deshidrogenasa, proporciona el NADPH para las reacciones de hidroxilación (oxidasa de función mixta) y también para el 11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa-1. Esta enzima cataliza la reducción de la cortisona (inactiva) al cortisol (activo) en el hígado, el sistema nervioso y el tejido adiposo. Es la principal fuente de cortisol intracelular en estos tejidos y puede ser importante en la obesidad y el síndrome metabólico.

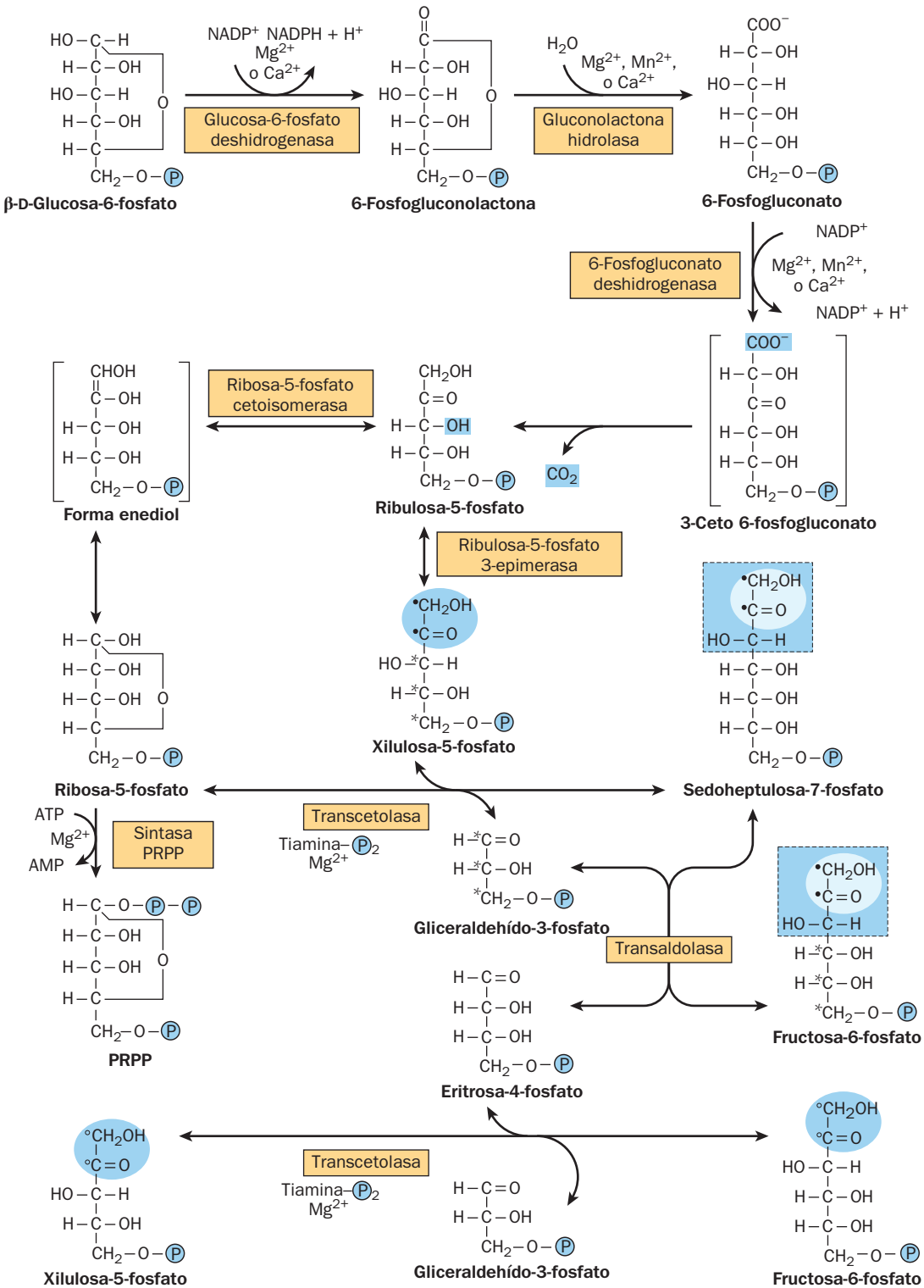


FIGURA 20-2 **La vía de la pentosa fosfato.** (P, —PO_3^{2-}, PRPP, 5-fosforribosil 1-pirofosfato).

La fase no oxidativa genera precursores de ribosa

La ribulosa-5-fosfato es el sustrato para dos enzimas. La **ribulosa-5-fosfato 3-epimerasa** altera la configuración sobre el carbono 3, formando el epímero xilulosa 5-fosfato, también una cetopentosa. La **ribosa-5-fosfato cetoisomerasa** convierte la ribulosa-5-fosfato a la correspondiente aldopentosa, la ribosa-5-fosfato, que se utiliza para los nucleótidos y la síntesis del ácido nucleico. La **transcetolasa** transfiere la unidad de dos carbonos que comprende átomos de carbono 1 y 2 de una cetosa en el carbono aldehído de un azúcar aldosa. Por tanto, efectúa la conversión de un azúcar cetosa en una aldosa con dos carbonos menos y un azúcar aldosa en una cetosa de dos carbonos más. La reacción requiere de Mg^{2+} y el **difosfato de tiamina** (vitamina B_1) como coenzima. La medición de la transcetolasa eritrocitaria y su activación por el difosfato de tiamina proporciona un índice del estado nutricional de la vitamina B_1 (véase capítulo 44). El residuo de dos carbonos se transfiere como glucolaldehído unido al difosfato de tiamina. Por tanto, la transcetolasa cataliza la transferencia de la unidad de dos carbonos de la xilulosa 5-fosfato a la ribosa-5-fosfato, la producción de la cetosa de siete carbonos, sedoheptulosa-7-fosfato y la aldosa gliceraldehído-3-fosfato. Estos dos productos luego se someten a la transaldolación. La **transaldolasa** cataliza la transferencia de un residuo de dihidroxiacetona de tres carbonos (carbonos de 1-3) de la cetosa sedoheptulosa-7-fosfato en la aldosa gliceraldehído-3-fosfato para formar la cetosa fructosa-6-fosfato y la aldosa de cuatro carbonos, la eritrosa-4-fosfato. La transaldolasa no tiene cofactor, y la reacción procede a través de la formación intermedia de una base de Schiff de la dihidroxiacetona al grupo ε-amino de un residuo de lisina en la enzima. En una reacción posterior catalizada por la **transcetolasa**, la xilulosa 5-fosfato sirve como un donante de glucolaldehído. En este caso, la eritrosa-4-fosfato es el receptor, y los productos de la reacción son la fructosa-6-fosfato y la gliceraldehído-3-fosfato.

Con el fin de oxidar la glucosa completamente a CO_2 a través de la vía de la pentosa fosfato, debe haber enzimas presentes en el tejido para convertir la gliceraldehído-3-fosfato en glucosa-6-fosfato. Esto implica la reversión de la glucólisis y la enzima gluconeogénica **fructosa 1,6-bisfosfatasa**. En los tejidos, la deficiencia de esta enzima, la gliceraldehído-3-fosfato sigue la vía normal de la glucólisis al piruvato.

Las dos vías principales para el catabolismo de la glucosa tienen poco en común

Aunque la glucosa-6-fosfato es común a ambas vías, la vía de la pentosa fosfato es notablemente diferente a la de la glucólisis. La oxidación utiliza el $NADP^+$ en lugar del NAD^+, y se produce el CO_2, que no se genera en la glucólisis. No se origina ATP en la vía de la pentosa fosfato, por tanto, es un producto de la glucólisis.

Sin embargo, las dos vías están conectadas. La xilulosa 5-fosfato activa la proteína fosfatasa que desfosforila la enzima bifuncional 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa (véase capítulo 17). Esto activa la cinasa e inactiva la fosfatasa, conduciendo al incremento de la formación de la fructosa 2,6 bisfosfato, al aumento de la actividad de la fosfofructocinasa-1, y por tanto a la elevación del flujo glucolítico. La xilulosa 5-fosfato también activa la proteína fosfatasa que inicia la translocación nuclear y la unión al DNA de la proteína, elemento de unión de respuesta a los carbohidratos, dando lugar al aumento de la síntesis de los ácidos grasos (véase capítulo 23) en respuesta a una dieta alta en carbohidratos.

Los equivalentes reductores se generan en aquellos tejidos especializados en la síntesis reductiva

La vía de la pentosa fosfato está activa en el hígado, el tejido adiposo, la corteza suprarrenal, la tiroides, los eritrocitos, los testículos y las glándulas mamarias lactantes. Su actividad es baja en la glándula mamaria no lactante y en el músculo esquelético. Esos tejidos en los que la vía es activa, usan el NADPH en la síntesis reductiva, por ejemplo, de ácidos grasos, esteroides, aminoácidos a través de la glutamato deshidrogenasa, y el glutatión reducido. La síntesis de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa también puede ser inducida por la insulina en el estado de alimentación, cuando aumenta la lipogénesis.

La ribosa se puede sintetizar en prácticamente todos los tejidos

Poca o ninguna ribosa circula en el torrente sanguíneo, por lo que los tejidos tienen que sintetizar la ribosa que requieren para la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos usando la vía de la pentosa fosfato (figura 20-2). No es necesario tener una vía de pentosa fosfato completamente funcional para que un tejido sintetice la ribosa-5-fosfato. El músculo tiene poca actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa, pero, como la mayoría de los otros tejidos, es capaz de sintetizar la ribosa-5-fosfato por la inversión de la fase no oxidativa de la vía de la pentosa fosfato utilizando la fructosa-6-fosfato.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO Y LA GLUTATIÓN PEROXIDASA PROTEGEN A LOS ERITROCITOS CONTRA LA HEMÓLISIS

En los glóbulos rojos, la vía de la pentosa fosfato es la única fuente del NADPH para la reducción del glutatión oxidado catalizado por la **glutatión reductasa**, una flavoproteína que contiene dinucleótido de adenina flavina (FAD, *flavin adenine dinucleotide*). El glutatión reducido elimina el H_2O_2 en una reacción catalizada por la **glutatión peroxidasa**, una enzima que contiene **selenio** análogo de la cisteína (la selenocisteína) en el sitio activo (**figura 20-3**). La reacción es importante debido a que la acumulación de H_2O_2 puede disminuir la vida útil de los eritrocitos al causar daño oxidativo a la membrana celular, lo que lleva a la hemólisis. En otros tejidos, el NADPH también puede ser generado por la reacción catalizada por la enzima málica.

EL GLUCURONATO, UN PRECURSOR DE LOS PROTEOGLUCANOS Y LOS GLUCURÓNIDOS CONJUGADOS, ES UN PRODUCTO DE LA VÍA DEL ÁCIDO URÓNICO

En el hígado, la **vía del ácido urónico** cataliza la conversión de la glucosa a ácido glucurónico, ácido ascórbico (excepto en los seres humanos y otras especies para las cuales el ascorbato es una vitamina, la vitamina C) y las pentosas (**figura 20-4**). Es también una vía oxidativa alternativa para la glucosa que, como la vía de la pentosa

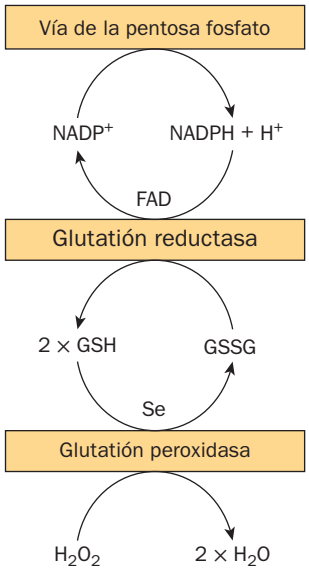


FIGURA 20-3 Función de la vía de la pentosa fosfato en la reacción de la glutatión peroxidasa de los eritrocitos. (GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; Se: enzima que contiene selenio.)

fosfato, no conduce a la formación del ATP. La glucosa-6-fosfato se isomeriza en glucosa-1-fosfato, que luego reacciona con la uridina trifosfato (UTP, *uridine triphosphate*) para formar la glucosa difosfato de uridina (UDPGlc, *uridine diphosphate glucose*) en una reacción catalizada por la **UDPGlc pirofosforilasa**, como ocurre en la síntesis del glucógeno (véase capítulo 18). La UDPGlc se oxida en el carbono 6 por la **UDPGlc deshidrogenasa** dependiente del NAD en una reacción de dos etapas para producir el UDP-glucuronato.

El UDP-glucuronato es la fuente de glucuronato para las reacciones que implican su incorporación en los proteoglucanos (véase capítulo 46) o para la reacción con sustratos tales como las hormonas esteroideas, la bilirrubina, y una serie de fármacos que se excretan en la orina o la bilis como los conjugados glucurónidos (véanse figura 31-13 y capítulo 47).

El glucuronato se reduce a L-gulonato, el precursor directo del **ascorbato** en aquellos animales capaces de sintetizar esta vitamina, en una reacción dependiente del NADPH. En los seres humanos y otros primates, así como en los conejillos de Indias, los murciélagos, y algunas aves y peces, el ácido ascórbico no puede ser sintetizado debido a la ausencia de L-**gulonolactona oxidasa**. El L-gulonato se oxida a 3-ceto-L-gulonato, que luego se descarboxila a L-xilulosa. La L-xilulosa se convierte en el isómero D por una reducción dependiente de NADPH a xilitol, seguido por la oxidación a D-xilulosa en una reacción dependiente del NAD. Después de la conversión a D-xilulosa 5-fosfato, se metaboliza a través de la vía de la pentosa fosfato.

LA INGESTIÓN DE GRANDES CANTIDADES DE FRUCTOSA TIENE CONSECUENCIAS METABÓLICAS PROFUNDAS

Las dietas ricas en sacarosa o en los jarabes ricos en fructosa (HFS, *high-fructose syrups*) utilizados en alimentos y bebidas manufacturados conducen a grandes cantidades de fructosa (y glucosa) que entran en la vena porta hepática.

La fructosa se somete a la glucólisis más rápido en el hígado que la glucosa, debido a que evita el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (**figura 20-5**). Esto permite a la fructosa inundar las vías en el hígado, lo que conduce a un aumento de la síntesis y esterificación de los ácidos grasos y la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, *very-low-density lipoprotein*), que puede elevar los triacilgliceroles en suero y en última instancia incrementar las concentraciones de colesterol LDL. La **fructocinasa** en el hígado, el riñón y el intestino cataliza la fosforilación de la fructosa a fructosa-1-fosfato. Esta enzima no actúa sobre la glucosa y, a diferencia de la glucocinasa, su actividad no se afecta por el ayuno o por la insulina, lo que puede explicar por qué la fructosa se elimina de la sangre de los pacientes diabéticos a un ritmo normal. La fructosa-1-fosfato se escinde a D-gliceraldehído y a dihidroxiacetona fosfato por la **aldolasa B**, una enzima que se encuentra en el hígado, que también funciona en la glucólisis en el hígado mediante la escisión de la fructosa 1,6-bisfosfato. El D-gliceraldehído entra a la glucólisis a través de la fosforilación a gliceraldehído-3-fosfato catalizada por la **triosa cinasa**. Las dos triosa fosfatos, la dihidroxiacetona fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato, pueden ser degradados por la glucólisis, o bien ser sustratos para la aldolasa, y por tanto de la gluconeogénesis, que es el destino de gran parte de la fructosa que se metaboliza en el hígado.

En los tejidos extrahepáticos, la hexocinasa cataliza la fosforilación de la mayoría de los azúcares de hexosa, incluyendo la fructosa, pero la glucosa inhibe la fosforilación de la fructosa, ya que es un mejor sustrato para la hexocinasa. Sin embargo, algo de fructosa se puede metabolizar en el tejido adiposo y en el músculo. La fructosa se encuentra en el plasma seminal y en la circulación fetal de ungulados y ballenas. La aldosa reductasa se encuentra en la placenta de la oveja y es responsable de la secreción del sorbitol en la sangre fetal. La presencia de sorbitol deshidrogenasa en el hígado, incluyendo el hígado fetal, es responsable de la conversión del sorbitol en fructosa. Esta vía también es responsable de la aparición de fructosa en el líquido seminal.

LA GALACTOSA ES NECESARIA PARA LA SÍNTESIS DE LA LACTOSA, LOS GLUCOLÍPIDOS, LOS PROTEOGLUCANOS Y LAS GLUCOPROTEÍNAS

La galactosa se deriva de la hidrólisis intestinal del disacárido **lactosa**, el azúcar que se encuentra en la leche. Se convierte fácilmente en el hígado a glucosa. La **galactocinasa** cataliza la fosforilación de la galactosa, usando ATP como donador de fosfato (**figura 20-6**). La galactosa-1-fosfato reacciona con la UDPGlc para formar la uridina difosfato galactosa (UDPGal, *uridine diphosphate galactose*) y la glucosa-1-fosfato, en una reacción catalizada por la **galactosa-1-fosfato uridil transferasa**. La conversión de UDPGal a UDPGlc está catalizada por la **UDPGal 4-epimerasa**. La reacción implica la oxidación, y luego la reducción, en el carbono 4, con NAD^+ como una coenzima. La UDPGlc se incorpora luego al glucógeno (véase capítulo 18).

La reacción de la epimerasa es libremente reversible, por lo que la glucosa se puede convertir en galactosa, y esta no es un

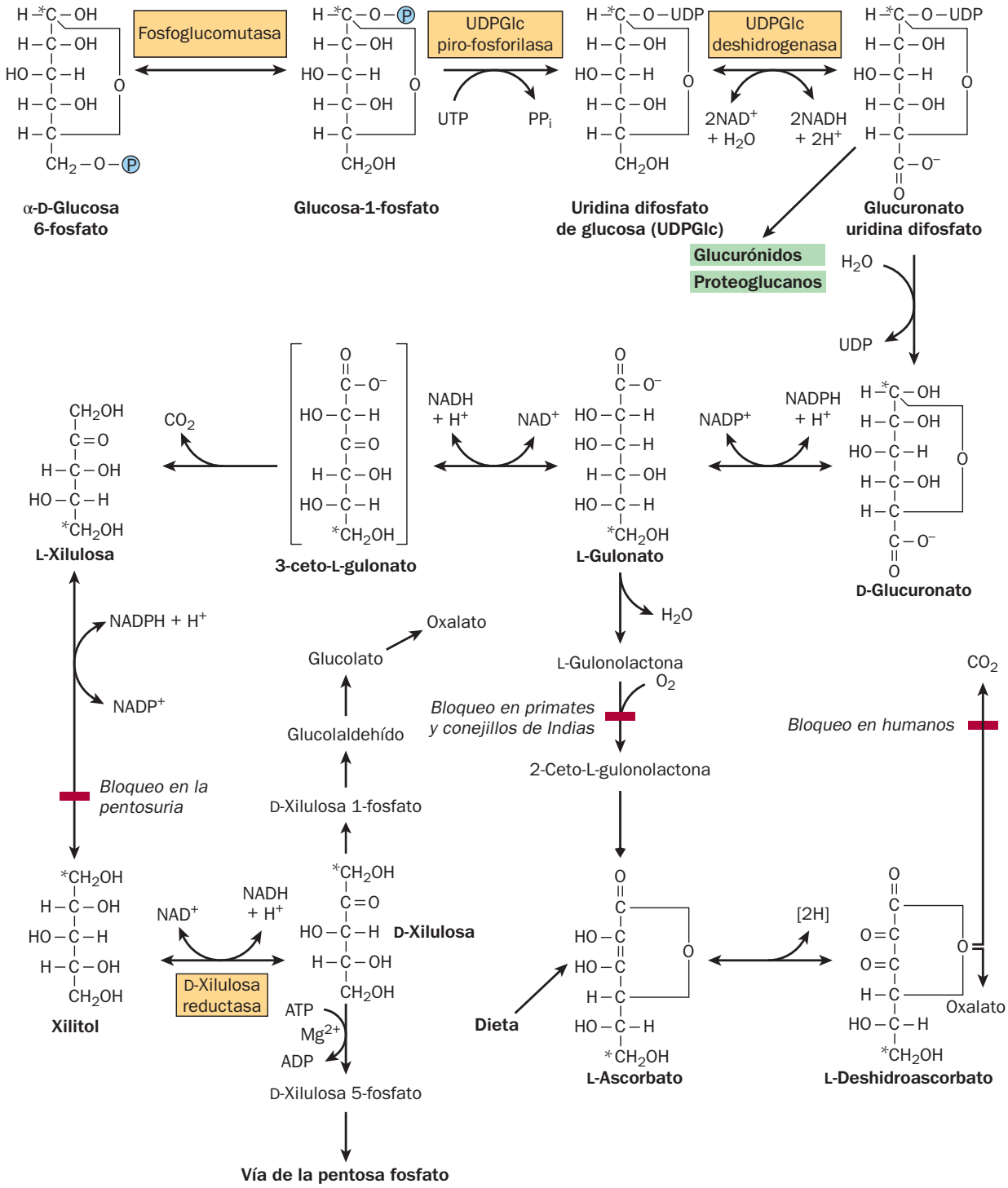


FIGURA 20-4 **Vía del ácido urónico.** (*Indica el destino del carbono 1 de la glucosa.)

elemento esencial de la dieta. La galactosa es necesaria en el cuerpo no sólo para la formación de la lactosa en la lactancia, sino también como componente de los glucolípidos (los cerebrósidos), los proteoglucanos y las glucoproteínas. En la síntesis de la lactosa en la glándula mamaria, la UDPGal se condensa con la glucosa para producir la lactosa, catalizada por la **lactosa sintasa** (figura 20-6).

La glucosa es el precursor de los aminoazúcares (hexosaminas)

Los aminoazúcares son componentes importantes de las **glucoproteínas** (véase capítulo 46), de ciertos **glucoesfingolípidos** (p. ej., los gangliósidos; véase capítulo 21) y de los glucosaminoglucanos (véase capítulo 50). Los aminoazúcares principales son las hexosa-

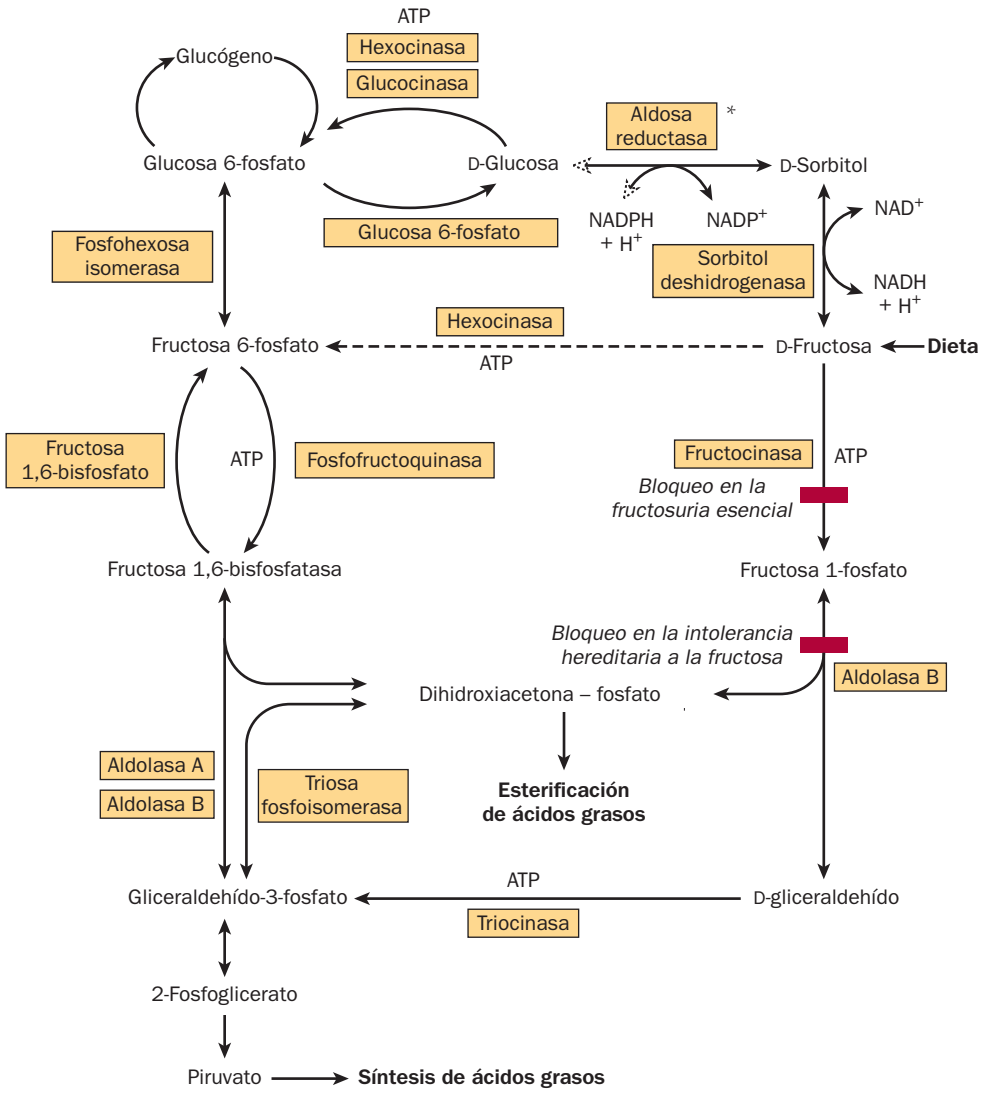


FIGURA 20-5 **Metabolismo de la fructosa.** La aldolasa A se encuentra en todos los tejidos, mientras que la aldolasa B es la forma predominante en el hígado. (*No se encuentra en el hígado.)

minas **glucosamina**, **galactosamina** y **manosamina**, y el **ácido siálico** compuesto de nueve carbonos. El ácido siálico primario que se encuentra en los tejidos humanos es el ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc, *N-acetylneuraminic acid*). En la **figura 20-7** se muestra un resumen de las interrelaciones metabólicas entre los aminoazúcares.

ASPECTOS CLÍNICOS

La alteración de la vía de la pentosa fosfato conduce a la hemólisis del eritrocito

Los defectos genéticos de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, con el consiguiente deterioro de la generación de NADPH, son comunes en las poblaciones de origen mediterráneo y afrocaribeño. El gen está en el cromosoma X, por lo que son principalmente los hombres los que se ven afectados. Alrededor de 400 millones de personas portan un gen mutado para la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, convirtiéndolo en el defecto genético más común, pero la mayoría son asintomáticos. En algunas poblaciones, la deficiencia de glucosa-6-fosfatasa es lo suficientemente común como para ser considerada como un polimorfismo genético. La distribución de los genes mutantes es paralela a la de la malaria, lo que sugiere que ser heterocigótico confiere resistencia a la malaria. El defecto se manifiesta como hemólisis de los glóbulos rojos (**anemia hemolítica**) cuando los individuos susceptibles se someten a estrés oxidativo (véase capítulo 45) por infección, fármacos antimaláricos tales como la primaquina y las sulfonamidas, o cuando han ingerido semillas de haba (*Vicia faba*, de ahí el nombre de la enfermedad, el **favismo**).

Se conocen muchas mutaciones diferentes en el gen de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, lo que lleva a dos variantes principales de favismo. En la variante afrocaribeña, la enzima es inestable, por lo que, si bien las actividades promedio de los glóbulos rojos son bajas, sólo los eritrocitos más viejos se afectan por el estrés oxidativo, y las crisis hemolíticas tienden a autolimitarse. Por el contrario, en la variante mediterránea, la enzima es estable, pero

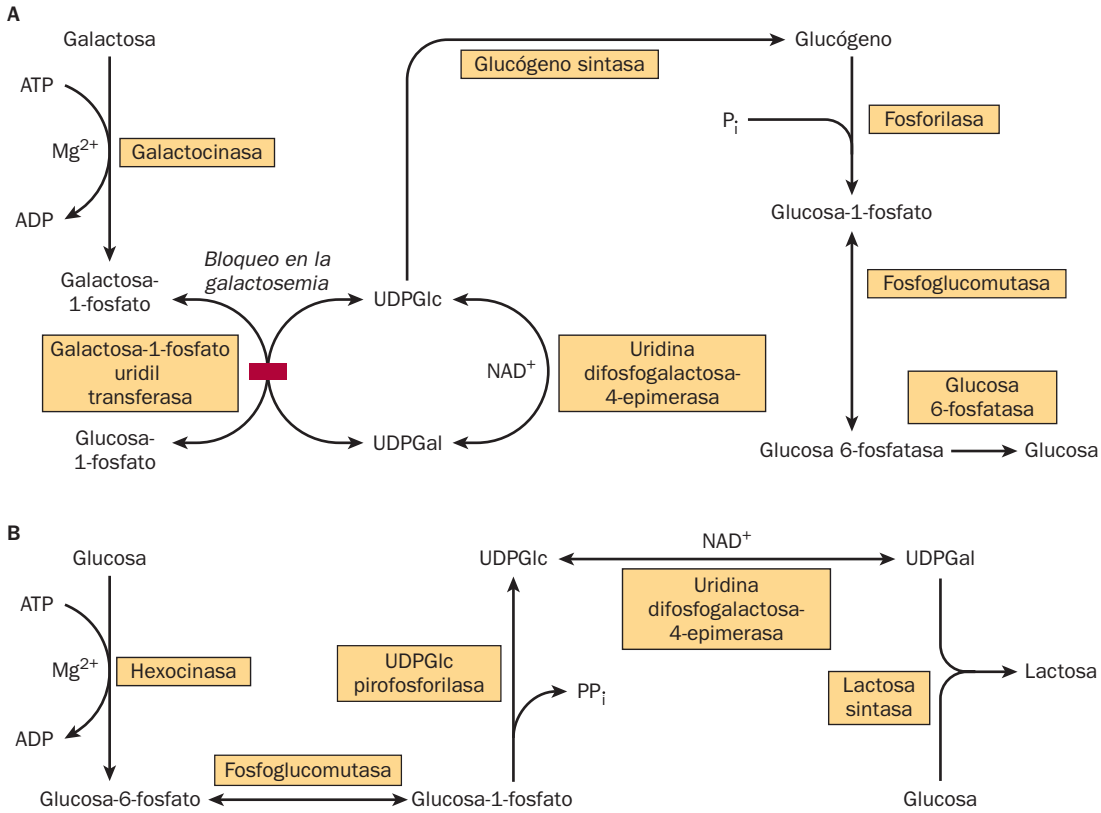


FIGURA 20-6 **Vía de conversión de A) galactosa a glucosa en el hígado y B) glucosa a lactosa en la glándula mamaria lactante.**

tiene baja actividad en todos los eritrocitos. Las crisis hemolíticas en estas personas son más graves y pueden ser fatales. La glutatión peroxidasa depende de un suministro de NADPH, que en los eritrocitos sólo se puede formar a través de la vía de la pentosa fosfato. Reduce los peróxidos orgánicos y el H_2O_2 como parte de la defensa del organismo contra la peroxidación lipídica. La medición de la **glutatión reductasa** de los eritrocitos, y su activación mediante la FAD se usa para evaluar el estado nutricional de la **vitamina B_2** (véase capítulo 44).

La interrupción de la vía del ácido urónico es causada por defectos enzimáticos y algunos fármacos

En la rara condición hereditaria benigna, la **pentosuria esencial**, aparecen cantidades considerables de **xilulosa** en la orina, debido a una deficiencia de la reductasa xilulosa, la enzima necesaria para reducir la xilulosa a xilitol. Aunque la pentosuria es benigna, sin consecuencias clínicas, la xilulosa es un azúcar reductor y puede dar resultados falsos positivos cuando se mide la glucosa en la orina usando reactivos de cobre alcalino (véase capítulo 48). Varios medicamentos aumentan la velocidad a la que la glucosa entra en la vía del ácido urónico. Por ejemplo, la administración de barbital o clorobutanol a ratas da como resultado un aumento significativo en la conversión de glucosa a glucuronato, L-gulonato y ascorbato. Las aminopirinas y las antipirinas aumentan la excreción de xilulosa en sujetos pentosúricos. La pentosuria también ocurre después del consumo de cantidades relativamente grandes de frutas tales como peras que son ricas en pentosas (la **pentosuria alimentaria**).

La carga del hígado con fructosa puede potenciar la hipertriacilgliceronemia, la hipercolesterolemia y la hiperuricemia

En el hígado, la fructosa aumenta la síntesis de ácidos grasos, triacilglicerol y la secreción de VLDL, lo que conduce a la hipertriacilgliceronemia, y aumento del colesterol LDL, que puede considerarse potencialmente aterogénico (véase capítulo 26). Esto se debe a que la fructosa entra a la glucólisis a través de la fructocinasa, y resulta que la fructosa-1-fosfato evita el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (véase capítulo 17). Además, la carga aguda del hígado con la fructosa, como puede ocurrir con la infusión intravenosa o tras la alta ingesta de fructosa, causa el secuestro de fosfato inorgánico en la fructosa-1-fosfato y disminuye la síntesis de ATP. Como resultado, hay menos inhibición de la síntesis por primera vez de la purina por parte del ATP y aumenta la formación del ácido úrico, lo que provoca la hiperuricemia, que es la causa de la **gota** (véase capítulo 33). Dado que la fructosa se absorbe del intestino delgado por difusión (pasiva) mediada por el transportador, las altas dosis orales pueden provocar diarrea osmótica.

Los defectos en el metabolismo de la fructosa causan enfermedad

La falta de fructocinasa hepática causa **fructosuria esencial**, que es una afección benigna y asintomática. La ausencia de la aldolasa B, que escinde la fructosa-1-fosfato, conduce a la **intolerancia hereditaria a la fructosa**, que se caracteriza por hipoglucemia profunda y vómitos después del consumo de fructosa (o sacarosa,

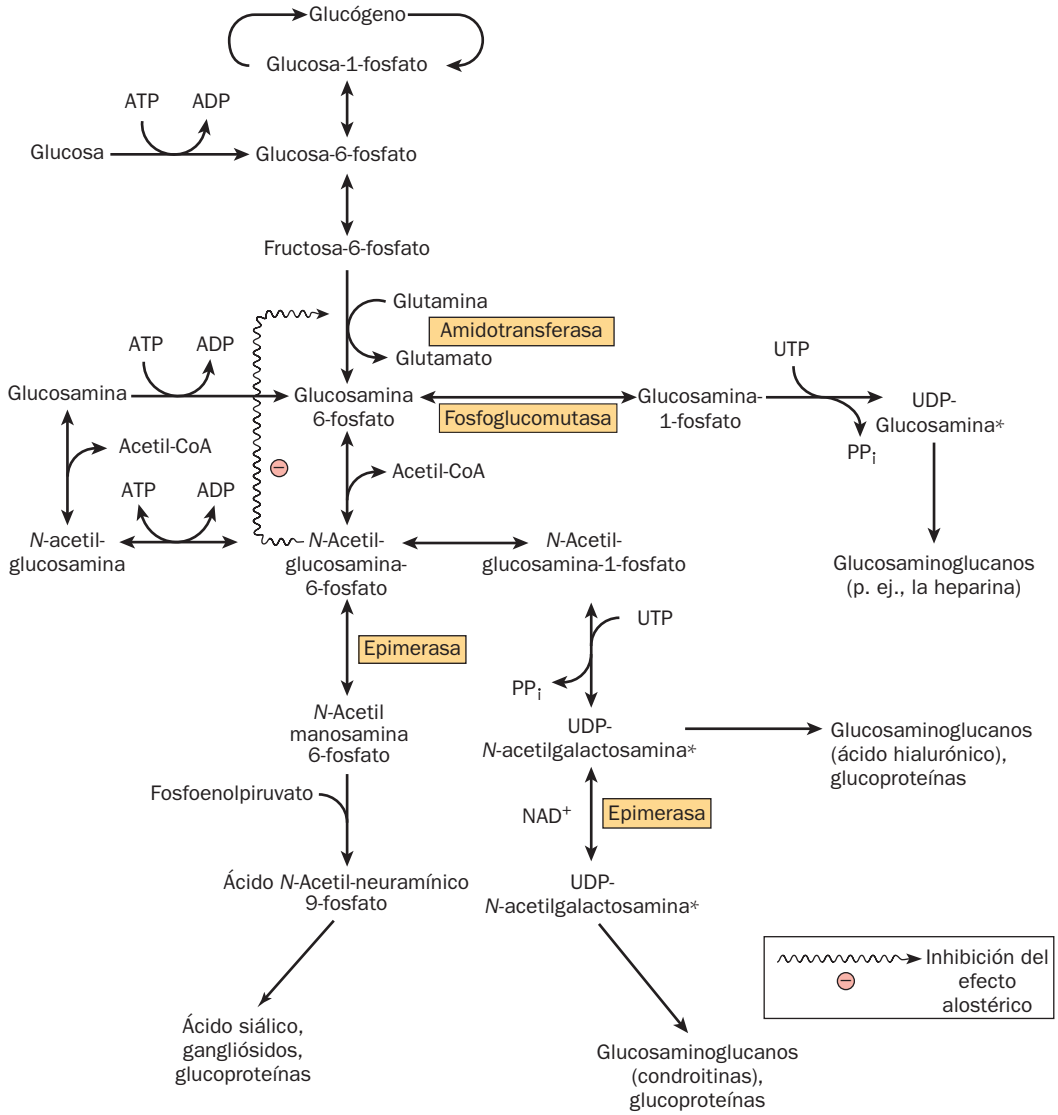


FIGURA 20-7 Resumen de las interrelaciones en el metabolismo de los aminoazúcares. (*Análoga a UDPGlc.) Otros nucleótidos de purina o pirimidina pueden estar vinculados de manera similar a azúcares o aminoazúcares. Ejemplos son la timidina difosfato (TDP, *thymidine diphosphate*)-glucosaminas y TDP-*N*-acetilglucosaminas.

que produce la fructosa en la digestión). Una dieta baja en fructosa, sorbitol y sacarosa es beneficiosa para ambas condiciones. Una consecuencia de la intolerancia hereditaria a la fructosa y de una afección relacionada, como resultado de la **deficiencia de la fructosa 1,6-bisfosfatasa** es la **hipoglucemia** inducida por la fructosa a pesar de la presencia de altas reservas de glucógeno, porque la fructosa-1-fosfato y el 1,6-bisfosfato inhiben alostéricamente la glucógeno fosforilasa del hígado. El secuestro de fosfato inorgánico también conduce al agotamiento del ATP y a la hiperuricemia.

La fructosa y el sorbitol en el cristalino están asociados con la catarata diabética

Tanto la fructosa como el sorbitol se encuentran en el cristalino del ojo en concentraciones aumentadas en la diabetes mellitus y pueden estar implicados en la patogénesis de la **catarata diabética**. La **vía del sorbitol (poliol)** (que no se encuentra en el hígado) es responsable de la formación de fructosa de la glucosa (figura 20-5) y aumenta la actividad a medida que la concentración de la glucosa se incrementa en aquellos tejidos que no son sensibles a la insulina: el cristalino, los nervios periféricos y el glomérulo renal. La glucosa se reduce a sorbitol por la **aldosa reductasa**, seguida por la oxidación de sorbitol a fructosa en presencia de NAD^+ y la sorbitol deshidrogenasa (la poliol deshidrogenasa). El sorbitol no se difunde a través de las membranas celulares, pero se acumula causando daño osmótico. Simultáneamente, los niveles de mioinositol caen. En animales experimentales, la acumulación de sorbitol y el agotamiento del mioinositol, así como la catarata diabética, pueden prevenirse con inhibidores de la aldosa reductasa. Varios inhibidores están siendo sometidos a ensayos clínicos para la prevención o efectos adversos de la diabetes.

Las deficiencias enzimáticas en la vía de la galactosa causan galactosemia

La incapacidad para metabolizar la galactosa se produce en las **galactosemias**, que pueden ser causadas por defectos hereditarios de la

galactocinasa, la **uridil transferasa**, o la 4-epimerasa (figura 20-6A), aunque la deficiencia de la uridil transferasa es la más conocida. La galactosa es un sustrato para la aldosa reductasa, formando galactitol, que se acumula en el cristalino del ojo, provocando cataratas. La afección es más grave, si es el resultado de un defecto en la uridil transferasa ya que la galactosa-1-fosfato se acumula y agota el fosfato inorgánico en el hígado. En última instancia provoca insuficiencia hepática y deterioro mental. En la deficiencia de la uridil transferasa, la epimerasa está presente en cantidades adecuadas, de modo que el individuo galactosémico aún puede formar la UDP-Gal a partir de la glucosa.

Esto explica cómo es posible que ocurra un crecimiento y desarrollo normal de los niños afectados a pesar de la dieta libre de galactosa utilizada para controlar los síntomas de la enfermedad.

RESUMEN

- La vía de la pentosa fosfato, presente en el citosol, puede explicar la oxidación completa de la glucosa, produciendo el NADPH y el CO_2, pero sin el ATP.
- La vía tiene una fase oxidativa, que es irreversible y genera el NADPH, y una fase no oxidativa, que es reversible y proporciona precursores de ribosa para la síntesis de nucleótidos. La vía completa está presente principalmente en aquellos tejidos que tienen un requisito del NADPH para la síntesis reductiva, por ejemplo, la lipogénesis o la esteroidogénesis, mientras que la fase no oxidativa está presente en todas las células que requieren ribosa.
- En los eritrocitos, la vía tiene una función importante en la prevención de la hemólisis proporcionando el NADPH para mantener el glutatión en el estado reducido como el sustrato para la peroxidasa de glutatión.
- La vía del ácido urónico es la fuente de ácido glucurónico para la conjugación de muchas sustancias endógenas y exógenas antes de la excreción en forma de glucurónidos en la orina y la bilis.
- La fructosa evita la etapa reguladora principal en la glucólisis, catalizada por la fosfofructocinasa, y estimula la síntesis de ácidos grasos y la secreción de triacilglicerol hepático.
- La galactosa se sintetiza a partir de glucosa en la glándula mamaria lactante y en otros tejidos donde se requiere para la síntesis de glucolípidos, proteoglucanos y glucoproteínas.

Preguntas del examen

Sección IV. Metabolismo de los carbohidratos

1. ¿Cuál de las siguientes opciones no es un azúcar reductor?
   A. Eritrosa
   B. Fructosa
   C. Galactosa
   D. Glucosa
   E. Ribosa
2. ¿Cuál de las siguientes opciones es la composición de la sacarosa?
   A. O-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-glucopiranosa
   B. O-α-D-glucopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranosida
   C. O-α-D-glucopiranosil-(1→4)-α-D-glucopiranosa
   D. O-α-D-glucopiranosil-(1→1)-α-D-glucopiranosida
   E. O-α-D-glucopiranosil-(1→6)-α-D-glucopiranosa
3. ¿Cuál de las siguientes opciones no es una pentosa?
   A. Fructosa
   B. Ribosa
   C. Ribulosa
   D. Xilosa
   E. Xilulosa
4. Se toma una muestra de sangre de una mujer de 50 años después de un ayuno durante la noche. ¿Cuál de las siguientes opciones tendrá una mayor concentración luego de haber ingerido alimento?
   A. Glucosa
   B. Insulina
   C. Cuerpos cetónicos
   D. Ácidos grasos no esterificados
   E. Triacilglicerol
5. Se toma una muestra de sangre de un hombre de 25 años después de que ha comido tres rebanadas de tostada y un huevo hervido. ¿Cuál de las siguientes opciones estará en una concentración más alta, que si la muestra de sangre hubiera sido tomada después de una noche de ayuno?
   A. Alanina
   B. Glucagón
   C. Glucosa
   D. Cuerpos cetónicos
   E. Ácidos grasos no esterificados
6. Se tomó una muestra de sangre de un hombre de 40 años que ha estado ayunando completamente durante una semana, bebiendo sólo agua. ¿Cuál de las siguientes opciones estará a una concentración más alta que después de una noche de ayuno normal?
   A. Glucosa
   B. Insulina
   C. Cuerpos cetónicos
   D. Ácidos grasos no esterificados
   E. Triacilglicerol
7. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre los estados metabólicos de alimentación y de ayuno son correctas?
   A. En el estado de ayuno, el glucagón actúa para aumentar la actividad de la lipoproteína lipasa en el tejido adiposo.
   B. En el estado de ayuno, el glucagón actúa para aumentar la síntesis del glucógeno a partir de la glucosa.
   C. En estado de alimentación, la insulina actúa para aumentar la ruptura del glucógeno para mantener la glucosa en sangre.
   D. En el estado de alimentación, hay disminución de la secreción de insulina en respuesta al incremento de la glucosa en la sangre portal.
   E. Los cuerpos cetónicos se sintetizan en el hígado en el estado de ayuno, y la cantidad sintetizada se incrementa a medida que el ayuno se extiende a la inanición.
8. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre los estados metabólicos de alimentación y ayuno son correctas?
   A. En el estado de alimentación, el músculo puede tomar la glucosa para usarla como un combustible metabólico porque el transporte de la glucosa en el músculo se estimula en respuesta al glucagón.
   B. En el estado de alimentación, hay una disminución de la secreción de glucagón en respuesta al incremento de la glucosa en la sangre portal.
   C. En el estado de alimentación, el glucagón actúa para aumentar la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa.
   D. La glucosa plasmática se mantiene en la inanición y el ayuno prolongado por la gluconeogénesis a partir de los cuerpos cetónicos.
   E. Hay un aumento de la tasa metabólica en el estado de ayuno.
9. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre los estados metabólicos de alimentación y ayuno son correctas?
   A. En el estado de ayuno el músculo sintetiza la glucosa a partir de los aminoácidos.
   B. En el estado de alimentación el tejido adiposo puede tomar la glucosa para la síntesis del triacilglicerol porque el transporte de la glucosa en el tejido adiposo se estimula en respuesta al glucagón.
   C. Los cuerpos cetónicos se sintetizan en el músculo en el estado de ayuno, y la cantidad sintetizada aumenta a medida que el ayuno se extiende hasta la inanición.
   D. Los cuerpos cetónicos proporcionan un combustible alternativo para los glóbulos rojos en el estado de ayuno.
   E. La glucosa plasmática se mantiene en la inanición y el ayuno prolongado por la gluconeogénesis a partir de los ácidos grasos.
10. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre los estados metabólicos de alimentación y ayuno son correctas?
    A. En el estado de ayuno el tejido adiposo sintetiza la glucosa a partir del glicerol liberado por la descomposición del triacilglicerol.
    B. En el estado de ayuno el tejido adiposo sintetiza los cuerpos cetónicos.
    C. En el estado de ayuno el combustible principal para los glóbulos rojos es el ácido graso liberado del tejido adiposo.
    D. Los cuerpos cetónicos proporcionan el combustible principal al sistema nervioso central en el estado de ayuno.
    E. La glucosa plasmática se mantiene en la inanición y el ayuno prolongado por la gluconeogénesis en el hígado a partir de los aminoácidos liberados por la ruptura de la proteína del músculo.
11. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre los estados metabólicos de alimentación y ayuno son correctas?
    A. Los ácidos grasos y el triacilglicerol se sintetizan en el hígado en el estado de ayuno.
    B. En el estado de ayuno el combustible principal para el sistema nervioso central es el ácido graso liberado del tejido adiposo.
    C. En el estado de ayuno el combustible metabólico principal para la mayoría de los tejidos proviene de los ácidos grasos liberados del tejido adiposo.
    D. En el estado de alimentación el músculo no puede tomar la glucosa para usarla como un combustible metabólico porque el transporte de la glucosa en el músculo se estimula en respuesta al glucagón.

E. La glucosa plasmática se mantiene en la inanición y el ayuno prolongado por la gluconeogénesis en el tejido adiposo a partir del glicerol liberado del triacilglicerol.

12. Un hombre de 25 años visita su GP quejándose de cólicos abdominales y diarrea después de beber leche. ¿Cuál es la causa más probable de su problema?
    A. Crecimiento bacteriano y de levadura en el intestino grueso
    B. Infección con el parásito intestinal *Giardia lamblia*
    C. Carencia de amilasa pancreática
    D. Carencia de lactasa en el intestino delgado
    E. Carencia de sacarasa-isomaltasa en el intestino delgado
13. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre la glucólisis y la gluconeogénesis es correcta?
    A. Todas las reacciones de la glucólisis son libremente reversibles para la gluconeogénesis.
    B. La fructosa no puede usarse para la gluconeogénesis en el hígado porque no puede ser fosforilada a fructosa-6-fosfato.
    C. La glucólisis puede ocurrir en ausencia del oxígeno sólo si el piruvato se forma del lactato en el músculo.
    D. Los glóbulos rojos sólo metabolizan la glucosa por la glucólisis anaeróbica (y la vía de la pentosa fosfato).
    E. El reverso de la glucólisis es la vía para la gluconeogénesis en el músculo esquelético.
14. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el paso en la glucólisis catalizado por la hexocinasa y en la gluconeogénesis por la glucosa-6-fosfatasa, es correcta?
    A. Debido a que la hexocinasa tiene un K_m bajo, aumenta su actividad en el hígado al incrementarse la concentración de la glucosa en la sangre portal.
    B. La glucosa-6-fosfatasa es principalmente activa en el músculo en estado de ayuno.
    C. Si la hexocinasa y la glucosa-6-fosfatasa son igualmente activas al mismo tiempo, hay formación neta de ATP del ADP y el fosfato.
    D. El hígado contiene una isoenzima de la hexocinasa, la glucocinasa, que es especialmente importante en el estado de alimentación.
    E. El músculo puede liberar la glucosa en la circulación a partir de sus reservas de glucógeno en el estado de ayuno.
15. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre este paso en la glucólisis catalizada por la fosfofructocinasa y en la gluconeogénesis por la fructosa-1,6-bifosfatasa, es correcta?
    A. La fructosa 1,6-bifosfatasa es principalmente activa en el hígado en el estado de alimentación.
    B. Si la fosfofructocinasa y la fructosa 1,6-bifosfatasa son igualmente activas al mismo tiempo, hay una formación neta de ATP del ADP y del fosfato.
    C. La fosfofructocinasa se inhibe más o menos completamente por concentraciones fisiológicas de ATP.
    D. La fosfofructocinasa es principalmente activa en el hígado en el estado de ayuno.
16. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo de la glucosa durante el ejercicio máximo es correcta?
    A. La gluconeogénesis a partir del lactato requiere menos ATP, que el que se forma durante la glucólisis anaeróbica.
    B. En el ejercicio máximo, el piruvato se oxida a lactato en el músculo.
    C. La deuda de oxígeno ocurre por la necesidad de exhalar el dióxido de carbono producido en respuesta a la acidosis.
    D. La deuda de oxígeno refleja la necesidad de sustituir el oxígeno que ha sido usado en el músculo durante el ejercicio intenso.
    E. Existe una acidosis metabólica como consecuencia del ejercicio intenso.
17. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes es correcta?
    A. La glucosa-1-fosfato puede ser hidrolizada para producir glucosa libre en el hígado.
    B. La glucosa-6-fosfato puede formarse de la glucosa, pero no del glucógeno.
    C. La glucosa-6-fosfato no puede ser convertida a glucosa-1-fosfato en el hígado.
    D. La glucosa-6-fosfato se forma a partir del glucógeno por la acción de la enzima glucógeno fosforilasa.
    E. En el hígado y los glóbulos rojos, la glucosa-6-fosfato puede entrar en la glucólisis o en la vía de la pentosa fosfato.
18. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el complejo multienzima piruvato deshidrogenasa, es correcta?
    A. En la deficiencia de la tiamina (la vitamina B_1), el piruvato formado en el músculo no puede ser transaminado a alanina.
    B. En la deficiencia de la tiamina (la vitamina B_1), el piruvato formado en el músculo no puede ser carboxilado a oxaloacetato.
    C. La reacción de la piruvato deshidrogenasa implica la descarboxilación y oxidación del piruvato, luego la formación del acetil-CoA.
    D. La reacción de la piruvato deshidrogenasa es fácilmente reversible, de modo que el acetil-CoA puede ser usado para la síntesis de piruvato, y por tanto la glucosa.
    E. La reacción de la piruvato deshidrogenasa conduce a la oxidación del NADH a NAD^+, y de ahí la formación de ~2.5 × ATP por mol de piruvato oxidado.
19. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre la vía de la pentosa fosfato es correcta?
    A. En el favismo los glóbulos rojos son más susceptibles al estrés oxidativo debido a una carencia del NADPH para la síntesis del ácido graso.
    B. La persona que carece de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no puede sintetizar los ácidos grasos debido a una carencia del NADPH en el hígado y el tejido adiposo.
    C. La vía de la pentosa fosfato es especialmente importante en los tejidos que sintetizan los ácidos grasos.
    D. La vía de la pentosa fosfato es la única fuente del NADPH para la síntesis del ácido graso.
    E. La vía de la pentosa fosfato proporciona una alternativa a la glucólisis sólo en el estado de ayuno.
20. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo del glucógeno es correcta?
    A. El glucógeno se sintetiza en el hígado en el estado de alimentación, entonces se exporta a otros tejidos en las lipoproteínas de baja densidad.
    B. Las reservas del glucógeno en el hígado y el músculo ofrecerán requerimientos de energía durante varios días en el ayuno prolongado.
    C. El hígado sintetiza más glucógeno cuando la concentración de glucosa en la sangre portal hepática es alta debido a la actividad de la glucocinasa en el hígado.
    D. El músculo sintetiza glucógeno en el estado de alimentación porque la glucógeno fosforilasa se activa en respuesta a la insulina.
    E. La concentración plasmática del glucógeno aumenta en el estado de alimentación.
21. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre la gluconeogénesis es correcta?
    A. Debido a que forman la acetil-CoA, los ácidos grasos pueden ser un sustrato para la gluconeogénesis.

B. Si el oxaloacetato se retira del ciclo del ácido cítrico para la gluconeogénesis, entonces puede ser sustituido por la acción de la piruvato deshidrogenasa.
C. La reacción de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa es importante para rellenar la cantidad de intermediarios del ciclo de ácido cítrico.
D. El uso de GTP como el donante de fosfato en la reacción de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa proporciona una relación entre la actividad del ciclo de ácido cítrico y la gluconeogénesis.
E. Existe una mayor producción de ATP en la glucólisis anaeróbica que el costo para la síntesis de la glucosa a partir del lactato.

22. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo de los carbohidratos es correcta?
A. Un paso clave en la biosíntesis del glucógeno es la formación de la UDP-glucosa.
B. El glucógeno puede ser dividido a glucosa-6-fosfato en el músculo, que entonces libera la glucosa libre por la acción de la enzima glucosa-6-fosfatasa.
C. El glucógeno se almacena principalmente en el hígado y el cerebro.
D. La insulina inhibe la biosíntesis del glucógeno.
E. La fosforilasa cinasa es una enzima que fosforila la enzima glucógeno fosforilasa y así disminuye la descomposición del glucógeno.

23. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo del glucógeno es correcta?
A. La actividad del glucógeno sintasa se aumenta por el glucagón.
B. El glucógeno fosforilasa es una enzima que puede ser activada por la fosforilación de residuos de serina.
C. El glucógeno fosforilasa no puede ser activado por los iones de calcio.
D. El cAMP activa la síntesis del glucógeno.
E. La glucógeno fosforilasa rompe los enlaces glucosídicos α1-4 por la hidrólisis.

24. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo de la glucosa es correcta?
A. El glucagón aumenta la velocidad de la glucólisis.
B. La glucólisis requiere del $NADP^+$.
C. En la glucólisis, la glucosa es dividida en dos compuestos de tres carbones.
D. La fosforilación a nivel de sustrato ocurre en el sistema de transporte del electrón.
E. El producto principal de la glucólisis en los glóbulos rojos es el piruvato.

25. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el metabolismo de los azúcares es correcta?
A. La fructocinasa fosforila la fructosa a fructosa-6-fosfato.
B. La fructosa es una glucosa parecida al azúcar aldosa.
C. El transporte de fructosa en las células es dependiente de la insulina.
D. La galactosa se fosforila a la galactosa-1-fosfato por la galactocinasa.
E. La sacarosa puede ser biosintetizada a partir de la glucosa y la fructosa en el hígado.

26. En la glucólisis, la conversión de 1 mol de fructosa 1,6-bifosfato a 2 mol de piruvato causa la formación de:
A. 1 mol NAD^+ y 2 mol de ATP
B. 1 mol NADH y 1 mol de ATP
C. 2 mol NAD^+ y 4 mol de ATP
D. 2 mol NADH y 2 mol de ATP
E. 2 mol NADH y 4 mol de ATP

27. ¿Cuál de las siguientes opciones proporcionará el combustible principal a la contracción muscular durante el ejercicio máximo a corto plazo?
A. Glucógeno del músculo
B. Reservas de triacilglicerol del músculo
C. Glucosa plasmática
D. Ácidos grasos plasmáticos no esterificados
E. Triacilglicerol en lipoproteína plasmática de muy baja densidad

28. El disacárido lactulosa no se digiere, pero se fermenta por bacterias intestinales, para producir 4 mol de lactato más cuatro protones. El amonio (NH_4^+) está en el equilibrio con el amoniaco (NH_3) en el torrente sanguíneo. ¿Cuál de las siguientes opciones explica mejor cómo la lactulosa actúa para tratar la hiperamonemia (concentración de amonio en sangre elevada)?
A. La fermentación de lactulosa aumenta la acidez del torrente sanguíneo de modo que hay más amonio y menos amoniaco disponible para cruzar la pared intestinal.
B. La fermentación de la lactulosa causa acidificación del contenido del intestino de modo que el amoniaco difunde desde el torrente sanguíneo al intestino y queda atrapado como amonio que no puede ir hacia atrás.
C. La fermentación de lactulosa causa acidificación del contenido del intestino de modo que el amoniaco producido por las bacterias intestinales es atrapado como amonio que no se puede difundir en el torrente sanguíneo.
D. La fermentación de la lactulosa causa un aumento de la osmolalidad del contenido intestinal de hasta ocho veces, de modo que hay más agua para que el amoniaco y el amonio se disuelvan, por tanto se absorbe menos hacia el torrente sanguíneo.
E. La fermentación de la lactulosa causa un aumento de la osmolalidad del contenido intestinal de hasta ocho veces, de modo que hay más agua para que el amoniaco y el amonio se disuelvan, de esa forma se difundirá más desde el torrente sanguíneo hacia el intestino.

SECCIÓN V

Metabolismo de los lípidos

CAPÍTULO 21

Lípidos de importancia fisiológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Definir los lípidos simples y complejos e identificar las clases de lípidos de cada grupo.
- Indicar la estructura de los ácidos grasos saturados e insaturados, explicar cómo la longitud de cadena y el grado de insaturación influyen en su punto de fusión, dar ejemplos y explicar la nomenclatura.
- Explicar la diferencia entre los dobles enlaces carbono-carbono *cis* y *trans*.
- Describir cómo se forman los eicosanoides mediante la modificación de la estructura de los ácidos grasos insaturados; identificar las diversas clases de eicosanoides e indicar sus funciones.
- Resumir la estructura general de los triacilgliceroles e indicar su función.
- Resumir la estructura general de los fosfolípidos y los glucoesfingolípidos e indicar las funciones de las diferentes clases.
- Apreciar la importancia del colesterol como precursor de muchos esteroides biológicamente importantes, incluyendo las hormonas esteroideas, los ácidos biliares y la vitamina D.
- Reconocer el núcleo cíclico común a todos los esteroides.
- Explicar por qué los radicales libres son perjudiciales para los tejidos e identificar las tres etapas en la reacción en cadena de la peroxidación de los lípidos, que los producen de forma continua.
- Describir cómo los antioxidantes protegen a los lípidos de la peroxidación, al inhibir el inicio de la cadena o al romper la cadena.
- Reconocer que muchos lípidos son moléculas anfipáticas, que tienen grupos tanto hidrófobos e hidrófilos en su estructura, y explicar cómo influye esto en su comportamiento en un ambiente acuoso y permite que ciertas clases, incluyendo los fosfolípidos, esfingolípidos y el colesterol, formen la estructura básica de las membranas biológicas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los lípidos son un grupo heterogéneo de compuestos, que incluyen las grasas, los aceites, los esteroides, las ceras y los compuestos relacionados, que están más vinculados con sus propiedades físicas que con sus propiedades químicas. Tienen la propiedad común de ser 1) relativamente **insolubles en agua** y 2) **solubles en solventes no polares** tales como el éter y el cloroformo. Ellos son constituyentes importantes de la dieta, no sólo por la energía de alto valor de las grasas, sino también porque los **ácidos grasos esenciales**, las **vitaminas liposolubles** y otros **micronutrientes** lipofílicos están contenidos en la grasa de los alimentos naturales. Se cree que la suplementación dietética **con ácidos grasos ω3 de cadena larga** tiene efectos beneficiosos en varias enfermedades crónicas, incluyendo la enfermedad cardiovascular, la artritis reumatoide y la demencia. La grasa se almacena en el **tejido adiposo**, donde también sirve como un aislante térmico en los tejidos subcutáneos y alrededor de ciertos órganos. Los lípidos no polares actúan como **aislantes eléctricos**, lo que permite una propagación rápida de las ondas de despolarización a lo largo de los **nervios mielinizados**. Los lípidos se transportan en la sangre combinados con las proteínas en las **lipoproteínas** particulares (véanse capítulos 25 y 26). Los lípidos tienen una función esencial en la nutrición y la salud, y el conocimiento de la bioquímica de los lípidos es necesario para la comprensión de muchas afecciones biomédicas importantes, que incluyen la **obesidad**, la **diabetes mellitus** y la **aterosclerosis**.

LOS LÍPIDOS SE CLASIFICAN COMO SIMPLES O COMPLEJOS

1. Los **lípidos simples** incluyen las grasas y las ceras, que son ésteres de ácidos grasos con varios alcoholes:
   a. **Grasas**: Ésteres de ácidos grasos con glicerol. Los **aceites** son grasas en estado líquido.
   b. **Ceras**: Ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de mayor peso molecular.
2. Los **lípidos complejos** son ésteres de ácidos grasos, que siempre contienen un alcohol, y uno o más ácidos grasos, pero que también tienen otros grupos. Se pueden dividir en tres tipos:
   a. **Fosfolípidos**: Contienen un residuo de ácido fosfórico. A menudo tienen bases que contienen nitrógeno (p. ej., la colina) y otros sustituyentes. En muchos fosfolípidos el alcohol es el glicerol (los **glicerofosfolípidos**), pero en los **esfingofosfolípidos** es la esfingosina, que contiene un grupo amino.
   b. **Glucolípidos** (los **glucoesfingolípidos**): Contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidrato.
   c. **Otros lípidos complejos**: Éstos incluyen lípidos tales como los sulfolípidos y los aminolípidos. Las lipoproteínas también pueden colocarse en esta categoría.
3. Los **lípidos derivados** se forman a partir de la hidrólisis de los lípidos simples y complejos. Incluyen los **ácidos grasos**, el glicerol, los esteroides, otros alcoholes, los aldehídos grasos, los cuerpos cetónicos (véase capítulo 22), los hidrocarbonos, las vitaminas y los micronutrientes solubles en lípidos, y las hormonas. Algunos de estos (p. ej., los ácidos grasos libres, el glicerol) también actúan como **lípidos precursores** en la formación de los lípidos simples y complejos.

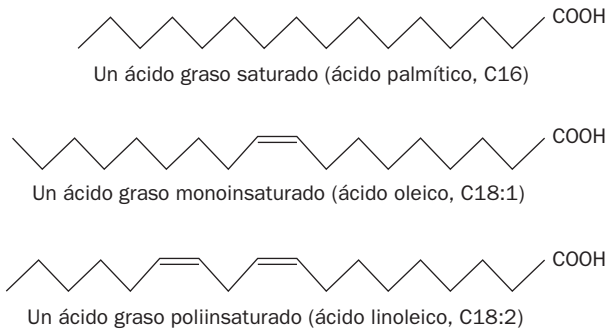


FIGURA 21-1 Ácidos grasos. Se muestran ejemplos de un ácido graso saturado (el ácido palmítico), monoinsaturado (el ácido oleico) y poliinsaturado (el ácido linoleico).

Debido a que no están cargados, los acilgliceroles (los glicéridos), el colesterol y los ésteres de colesterilo se denominan **lípidos neutros**.

LOS ÁCIDOS GRASOS SON ÁCIDOS CARBOXÍLICOS ALIFÁTICOS

Los ácidos grasos se hayan en el cuerpo principalmente como ésteres, en grasas y aceites naturales, pero se encuentran en forma no esterificada como **ácidos grasos libres**, una forma de transporte en el plasma. Los ácidos grasos que se encuentran en las grasas naturales por lo general contienen un número par de átomos de carbono. La cadena puede estar **saturada** (que no contiene doble enlace) o **insaturada** (que contiene uno o más dobles enlaces) (**figura 21-1**).

Los ácidos grasos se nombran de acuerdo con sus correspondientes hidrocarbonos

La nomenclatura sistemática más frecuentemente utilizada es nombrar al ácido graso después del hidrocarbono con el mismo número y la disposición de átomos de carbono, con **-oico** sustituido para la **-e** final (sistema de Ginebra). Por tanto, los ácidos saturados terminan en **-anoico**, por ejemplo, ácido octanoico (C8), y los ácidos insaturados con dobles enlaces terminan en **-enoico**, por ejemplo, el ácido octadecenoico (el ácido oleico, C18).

Los átomos de carbono se numeran a partir del carbono carboxílico (el carbono no. 1). Los átomos de carbono adyacentes al carbono carboxílico (nos. 2, 3 y 4) también se conocen como los carbonos α, β y γ, respectivamente, y el carbono metilo terminal se conoce como ω- o n-carbono.

Varias convenciones usan Δ para indicar el número y la posición de los dobles enlaces (**figura 21-2**); por ejemplo, Δ^9 indica un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 del ácido graso; ω9 indica un doble enlace en el noveno recuento de carbono del ω-carbono.

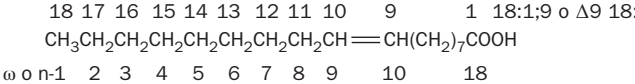


FIGURA 21-2 Nomenclatura para el número y la posición de los dobles enlaces en los ácidos grasos insaturados. Ilustrado usando el ácido oleico como ejemplo: *n* — 9 es equivalente a ω9.

En los animales, los dobles enlaces adicionales pueden ser introducidos sólo entre el doble enlace existente en el ω9, ω6 o posición ω3 y el carbono carboxilo, conduciendo a tres series de ácidos grasos conocidos como **ω9**, **ω6** y las familias **ω3**, respectivamente.

Los ácidos grasos saturados no contienen enlaces dobles

Los ácidos grasos saturados pueden ser considerados, basados en el ácido acético (CH_3—COOH), como el primer miembro de la serie en la que se añade progresivamente CH_2— entre el terminal CH_3— y los grupos COOH—. Los ejemplos se muestran en el **cuadro 21-1**. Se sabe que ocurren en otros miembros superiores de la serie, particularmente en las ceras. También se han aislado algunos ácidos grasos de cadena ramificada de fuentes vegetales y animales.

Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces

Los ácidos grasos insaturados (figura 21-1, **cuadro 21-2**, por ejemplo) se pueden subdividir aún más de la siguiente manera:

1. **Ácidos monoinsaturados** (monoetinoide, monoenoico), que contienen un doble enlace.
2. **Ácidos poliinsaturados** (los polietenoides, los polienoicos) que contienen dos o más enlaces dobles.

CUADRO 21-1 Ácidos grasos saturados

Nombre común	Cantidad de átomos de C	Ocurrencia
Acético	2	Producto final principal de la fermentación de los carbohidratos por los organismos rumiantes
Butírico	4	En ciertas grasas en pequeñas cantidades (especialmente la mantequilla). Un producto final de la fermentación de los carbohidratos por los organismos rumiantes[a]
Valérico	5	
Caproico	6	
Láurico	12	Esperma, canela, almendra de palma, aceites de coco, laureles, mantequilla
Mirístico	14	Nuez moscada, almendra de palma, aceites de coco, mirtos, mantequilla
Palmítico	16	Común en todas las grasas animales y vegetales
Esteárico	18	

[a] También formado en el ciego de los herbívoros y en menor grado en el colon de los humanos.

CUADRO 21-2 Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica y nutricional

Número de átomos de C y número y posición de los dobles enlaces comunes	Familia	Nombre común	Nombre sistemático	Ocurrencia
Ácidos monoenoicos (un doble enlace)				
16:1;9	ω7	Palmitoleico	*cis*-9-Hexadecenoico	En casi todas las grasas
18:1;9	ω9	Oleico	*cis*-9-Octadecenoico	Posiblemente el ácido graso más común en las grasas naturales; especialmente alto en el aceite de oliva
18:1;9	ω9	Elaídico	*trans*-9-Octadecenoico	Grasas hidrogenadas y rumiantes
Ácidos dienoicos (dos dobles enlaces)				
18:2;9,12	ω6	Linoleico	all-*cis*-9,12-Octadecadienoico	Maíz, maní, semilla de algodón, frijol de soja y muchos aceites vegetales
Ácidos trienoicos (tres dobles enlaces)				
18:3;6,9,12	ω6	γ-Linolénico	all-*cis*-6,9,12-Octadecatrienoico	Algunas plantas, por ejemplo, el aceite de onagra, el aceite de borraja; ácido graso menor en animales
18:3;9,12,15	ω3	α-Linolénico	all-*cis*-9,12,15-Octadecatrienoico	Se encuentra con frecuencia con el ácido linoleico, pero especialmente en el aceite de linaza
Ácidos tetraenoicos (cuatro dobles enlaces)				
20:4;5,8,11,14	ω6	Araquidónico	all-*cis*-5,8,11,14-eicosatetraenoico	Se encuentra en las grasas animales; componente importante de los fosfolípidos en los animales
Ácidos pentanoicos (cinco dobles enlaces)				
20:5;5,8,11,14,17	ω3	Timnodónico	all-*cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico	Componente importante de los aceites de pescado, por ejemplo, hígado de bacalao, caballa, lacha, aceites de salmón
Ácido hexaenoico (seis dobles enlaces)				
22:6;4,7,10,13,16,19	ω3	Cervónico	all-*cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Aceites de pescado, aceites de algas, fosfolípidos en el cerebro

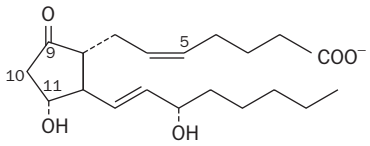


FIGURA 21-3 **Prostaglandina E_2 (PGE_2).**

3. **Eicosanoides**: Estos compuestos, derivados de los ácidos grasos polienoicos eicosa (20 carbonos) (véase capítulo 23), incluyen los **prostanoides**, los **leucotrienos** (**LT**, *leukotrienes*), y las **lipoxinas** (**LX**, *lipoxins*). Los prostanoides incluyen las **prostaglandinas** (**PG**, *prostaglandins*), las **prostaciclinas** (**PGI**, *prostacyclins*) y los **tromboxanos** (**TX**, *thromboxanes*).

Las **prostaglandinas** existen en prácticamente todos los tejidos de mamíferos, actúan como hormonas locales; tienen importantes actividades fisiológicas y farmacológicas. Se sintetizan *in vivo* mediante la ciclización del centro de una cadena de 20 átomos de carbono (eicosanoico) de ácidos grasos poliinsaturados (p. ej., el ácido araquidónico) (**figura 21-3**). Una serie relacionada de compuestos, los **tromboxanos**, tienen el anillo de ciclopentano interrumpido con un átomo de oxígeno (anillo oxano) (**figura 21-4**). Tres diferentes ácidos grasos eicosanoicos dan lugar a tres grupos de eicosanoides caracterizados por el número de enlaces dobles en las cadenas laterales (véase figura 23-12), por ejemplo, la prostaglandina $(PG)_1$, PG_2 y PG_3. Diferentes grupos sustituyentes unidos a los anillos dan lugar a series de prostaglandinas y tromboxanos etiquetados A, B, etc. (véase figura 23-13), por ejemplo, el tipo "E" de la prostaglandina (como en el PGE_2) tiene un grupo ceto en la posición 9, mientras que el tipo "F" tiene un grupo hidroxilo en esta posición. Los **leucotrienos** y las **lipoxinas** (**figura 21-5**) son un tercer grupo de derivados de eicosanoides formados a través de la **vía de la lipooxigenasa** (véase figura 23-13). Se caracterizan por la presencia de tres o cuatro enlaces dobles conjugados, respectivamente. Los leucotrienos causan broncoconstricción y son potentes agentes proinflamatorios y desempeñan una función importante en el **asma**.

La mayoría de los ácidos grasos insaturados que se producen naturalmente tienen dobles enlaces *cis*

Las cadenas de carbono de los ácidos grasos saturados forman un patrón en zigzag, cuando alcanzan bajas temperaturas (figura 21-1). A temperaturas más altas, algunos enlaces rotan, causando el acortamiento de la cadena, lo que explica por qué las biomembranas se vuelven más delgadas a medida que aumentan las temperaturas. Un tipo de **isomería geométrica** se produce en los ácidos grasos insaturados, dependiendo de la orientación de los átomos o los grupos alrededor de los ejes de doble enlace, que no permiten la rotación. Si las cadenas de acilo están en el mismo lado del

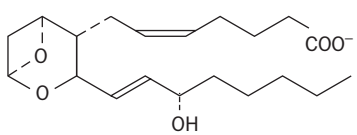


FIGURA 21-4 **Tromboxano A_2 (TXA_2).**

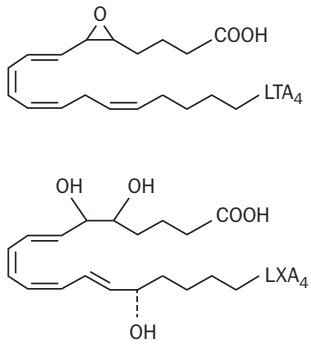


FIGURA 21-5 **Estructura del leucotrieno y la lipoxina.** Los ejemplos que se muestran son el leucotrieno A_4 (LTA_4) y la lipoxina A_4 (LXA_4).

enlace, es ***cis***, como en el ácido oleico; si está en lados opuestos, es ***trans***, como en el ácido elaídico, el isómero *trans* del ácido oleico (**figura 21-6**). Los dobles enlaces en los ácidos grasos de cadena larga insaturados de origen natural están casi todos en la configuración *cis*, las moléculas se "doblan" 120° en el doble enlace. Por tanto, el ácido oleico tiene una forma de V, mientras que el ácido elaídico permanece "recto". El incremento en el número de enlaces *cis* dobles en un ácido graso conduce a una variedad de configuraciones espaciales posibles de la molécula, por ejemplo, el ácido araquidónico, con cuatro dobles enlaces *cis*, se dobla en forma de U (**figura 21-7**). Esto tiene una gran importancia para el empaquetamiento molecular en las membranas celulares (véase capítulo 40) y en las posiciones ocupadas por los ácidos grasos en moléculas más complejas como los fosfolípidos. Los dobles enlaces *trans* alteran estas relaciones espaciales. Los **ácidos grasos *trans*** están presentes en ciertos alimentos, que surgen como un subproducto de la saturación de los ácidos grasos durante la hidrogenación, o "endurecimiento", o en aceites naturales en la fabricación

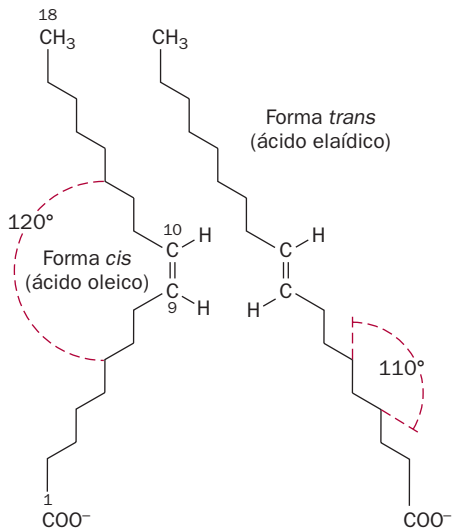


FIGURA 21-6 **Isomería geométrica de Δ^9, ácidos grasos 18:1 (ácido oleico y ácido elaídico).** No hay rotación alrededor del doble enlace carbono-carbono. En la configuración *cis*, las cadenas de acilo están en el mismo lado del enlace, mientras que en la forma *trans* están en lados opuestos.

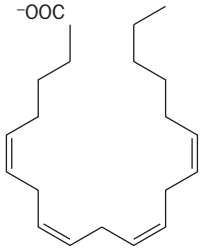


FIGURA 21-7 **Ácido araquidónico.** Cuatro enlaces dobles en la configuración *cis* doblan la molécula en forma de U.

de la margarina. Una pequeña contribución adicional proviene de la ingestión de grasa de rumiante que contiene ácidos grasos *trans* que surgen de la acción de microorganismos en la rumia. Ahora se sabe que el consumo de ácidos grasos *trans* es perjudicial para la salud y se asocia con un mayor riesgo de padecimientos, incluidas las enfermedades cardiovasculares y la diabetes mellitus. Esto ha conducido a un mejoramiento de la tecnología para producir margarina suave baja en ácidos grasos *trans* o que no contengan ninguna.

Las propiedades físicas y fisiológicas de los ácidos grasos reflejan la longitud de la cadena y el grado de insaturación

Los puntos de fusión de los ácidos grasos de carbono con número par aumentan con la longitud de la cadena y disminuyen de acuerdo con la insaturación.

Un triacilglicerol que contiene tres ácidos grasos saturados de 12 o más carbonos es sólido a la temperatura del cuerpo, mientras que si los residuos de ácidos grasos son poliinsaturados, es líquido por debajo de 0 °C. En la práctica, los acilgliceroles naturales contienen una mezcla de ácidos grasos adaptados a su papel funcional. Por ejemplo, los lípidos de membrana, que deberían ser líquidos a las temperaturas ambientales, son más insaturados que los lípidos de almacenamiento. Los lípidos en los tejidos que están sujetos al enfriamiento, por ejemplo, durante la hibernación o en las extremidades de los animales, también son más insaturados.

Los ácidos grasos ω3 son antiinflamatorios y tienen beneficios para la salud

Los ácidos grasos ω3 de cadena larga tales como el **alfalinolénico** (**ALA**, *α-linolenic*) (que se encuentra en los aceites vegetales), el **eicosapentaenoico** (**EPA**, *eicosapentaenoic*) (que se encuentra en el aceite de pescado) y el **docosahexaenoico** (**DHA**, *docosahexaenoic*) (que se encuentra en aceites de pescado y algas) (cuadro 21-2) tienen efectos antiinflamatorios, posiblemente debido a su promoción de la síntesis de prostaglandinas menos inflamatorias y leucotrienos en comparación con los ácidos grasos ω6 (véase figura 23-12). En vista de esto, su posible uso como terapia en enfermedades crónicas graves, donde la inflamación es un factor contribuyente, está bajo una intensa investigación. La evidencia actual sugiere que la dieta rica en ácidos grasos ω3 es beneficiosa, especialmente para las **enfermedades cardiovasculares** y también para otros padecimientos degenerativos crónicos como el **cáncer**, la **artritis reumatoide** y la **enfermedad de Alzheimer**.

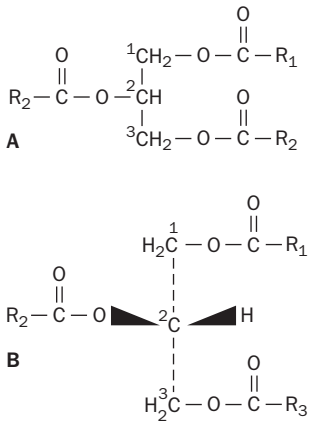


FIGURA 21-8 **A) Triacilglicerol. B) Fórmula de proyección que muestra el triacil-*sn*-glicerol.**

LOS TRIACILGLICEROLES (TRIGLICÉRIDOS)* SON LAS PRINCIPALES FORMAS DE ALMACENAMIENTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los triacilgliceroles (**figura 21-8**) son ésteres del alcohol trihidroxilado glicerol y los ácidos grasos. Los mono y diacilgliceroles, en donde uno o dos ácidos grasos están esterificados con el glicerol, también se encuentran en los tejidos. Éstos son de particular importancia en la síntesis e hidrólisis de los triacilgliceroles (véanse capítulos 24 y 25).

Los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos

Para numerar inequívocamente los átomos de carbono del glicerol, se usa el sistema de numeración estereoquímica (*sn*, *stereochemical numbering*). Es importante darse cuenta de que los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos cuando se ven en tres dimensiones (se muestra como una fórmula de proyección en la figura 21-8B). Se distinguen fácilmente las enzimas entre ellas y casi siempre son específicas para uno u otro carbono; por ejemplo, el glicerol siempre está fosforilado en *sn*-3 por la glicerol cinasa para dar el glicerol-3-fosfato y no glicerol-1-fosfato (véase figura 24-2).

LOS FOSFOLÍPIDOS SON LOS PRINCIPALES CONSTITUYENTES DE LOS LÍPIDOS DE MEMBRANAS

Muchos fosfolípidos son derivados del **ácido fosfatídico** (**figura 21-9**), en el que el fosfato se esterifica con un grupo OH del glicerol y los otros dos grupos OH están esterificados con dos ácidos grasos

*De acuerdo con la terminología estandarizada de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada y la Unión Internacional de Bioquímica, los monoglicéridos, los diglicéridos y los triglicéridos deben ser designados como monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles, respectivamente. Sin embargo, la terminología más antigua todavía se usa ampliamente, sobre todo en la medicina clínica.

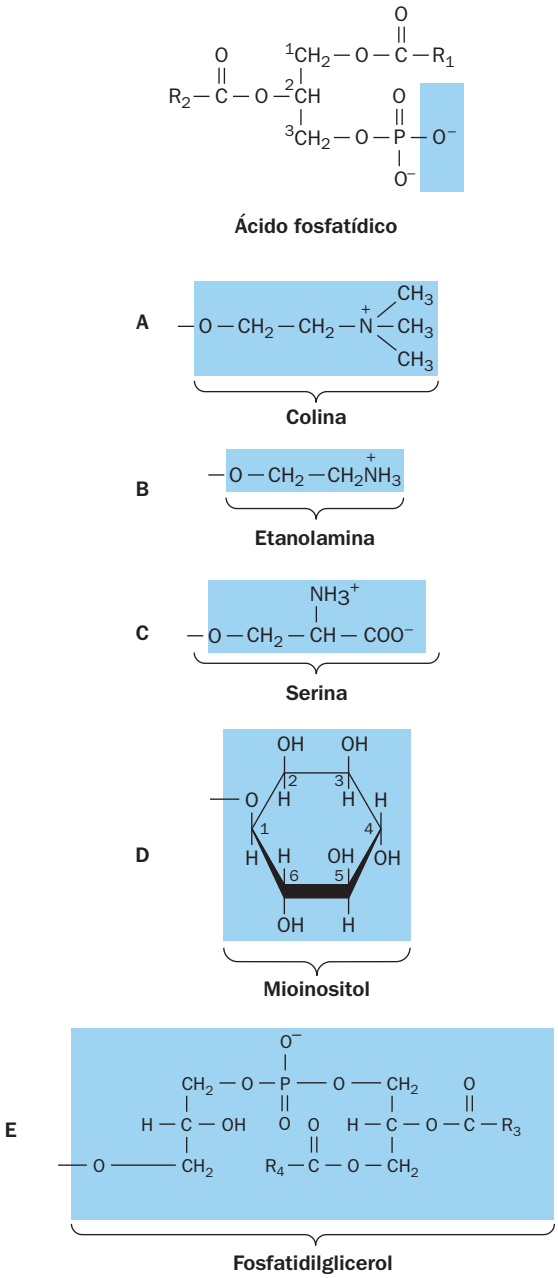


FIGURA 21-9 **Fosfolípidos.** La **O** que se muestra sombreada en el ácido fosfatídico se reemplaza por los sustituyentes que se muestran para formar los fosfolípidos: **A)** 3 fosfatidilcolina, **B)** 3-fosfatidiletanolaminas, **C)** 3-fosfatidilserina, **D)** 3-fosfatidilinositol y **E)** cardiolipina (difosfatidilglicerol).

de cadena larga (los glicerofosfolípidos). El ácido fosfatídico es importante como un intermediario en la síntesis de los triacilgliceroles, así como los fosfogliceroles (véase figura 24-2), pero no se encuentra en gran cantidad en los tejidos. Los esfingolípidos, tales como la **esfingomielina**, en el que el fosfato se esterifica a **esfingosina**, un aminoalcohol complejo (**figura 21-10**), son también componentes importantes de la membrana. Tanto los glicerofosfolípidos y los esfingolípidos tienen dos colas de hidrocarbonos de cadena larga que son importantes para su función en la formación de la bicapa de lípido en las membranas celulares (véase capítulo

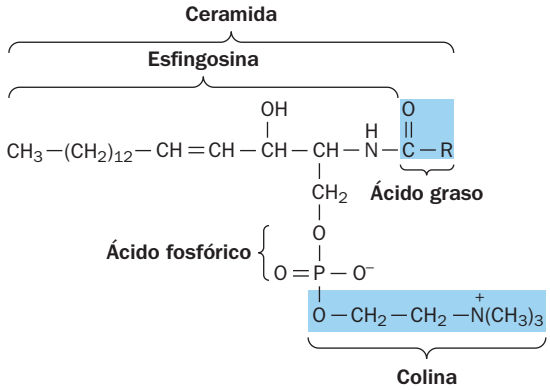


FIGURA 21-10 **Una esfingomielina.**

40), pero en el primero ambas son cadenas de ácidos grasos, mientras que en el segundo uno es un ácido graso y la otra es parte de la molécula de la esfingosina (**figura 21-11**).

Las fosfatidilcolinas (lecitinas) y las esfingomielinas abundan en las membranas celulares

Los glicerofosfolípidos que contienen **colina** (figura 21-9) (las fosfatidilcolinas, comúnmente llamadas **lecitinas**) son los fosfolípidos más abundantes de la membrana celular y representan una gran proporción de la reserva de colina en el cuerpo.

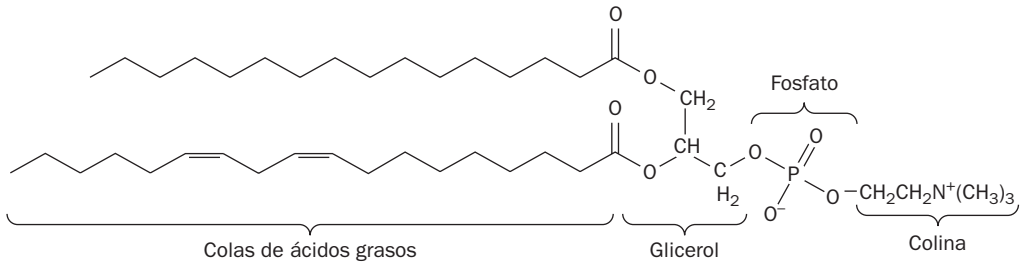
La colina es importante en la transmisión nerviosa, como acetilcolina, y como una reserva de grupos metilo lábiles. La **dipalmitoil lecitina** es un agente activo de superficie muy eficaz y el componente principal del **surfactante** que impide la adherencia, debido a la tensión superficial de las superficies internas de los pulmones. Su ausencia en los pulmones de los bebés prematuros causa el **síndrome de dificultad respiratoria**. La mayoría de los fosfolípidos tienen un radical acilo saturado en la posición *sn*-1 pero un radical insaturado en la posición *sn*-2 del glicerol.

La **fosfatidiletanolamina** (**cefalina**) y la **fosfatidilserina** (se encuentra en la mayoría de los tejidos) también se localizan en las membranas celulares, y difieren de la fosfatidilcolina sólo en que la etanolamina o la serina, respectivamente, reemplaza a la colina (figura 21-9). La fosfatidilserina también realiza una función en la **apoptosis** (la muerte celular programada).

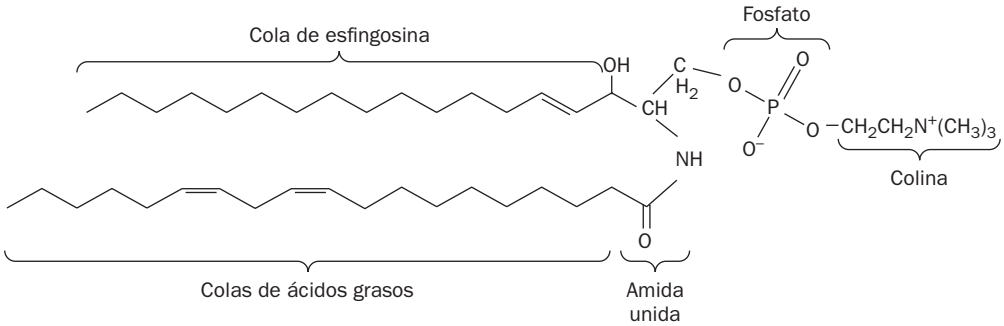
Las esfingomielinas se encuentran en la hoja externa de la bicapa lipídica de la membrana celular y son particularmente abundantes en áreas de la membrana plasmática conocidas como **balsas lipídicas** (véase capítulo 40). También se encuentran en grandes cantidades en la **vaina de mielina** que rodea las fibras nerviosas. Se considera que desempeñan una función en la **señalización celular** y en la **apoptosis**. Las esfingomielinas no contienen glicerol, y en la hidrólisis producen ácido graso, ácido fosfórico, colina y esfingosina (figura 21-10). La combinación de esfingosina más ácido graso se conoce como **ceramida**, una estructura que se encuentra en los glucoesfingolípidos (véase siguiente sección a continuación).

El fosfatidilinositol es un precursor de los segundos mensajeros

El inositol está presente en el **fosfatidilinositol** como el estereoisómero mioinositol (figura 21-9). Los fosfatidilinositoles fosforilados (**fosfoinosítidos**) son componentes menores de las membranas celu-



Fosfatidilcolina



Una esfingomielina

FIGURA 21-11 Comparación de las estructuras de los glicerofosfolípidos y los esfingolípidos. Ambos tipos de fosfolípidos tienen dos colas de hidrocarbono, en los glicerofosfolípidos ambos son cadenas de ácidos grasos (se muestra una fosfatidilcolina con un ácido graso saturado y uno insaturado) y en los esfingolípidos uno es una cadena de ácido graso y el otro es parte del resto de esfingosina (se muestra una esfingomielina). Las dos colas hidrofóbicas y el grupo de cabeza polar son importantes para la función de estos fosfolípidos en la bicapa lipídica en las membranas celulares (véase capítulo 40).

lares, pero desempeñan una función importante en la **señalización celular** y en el **transporte de membrana**. Los fosfoinosítidos pueden tener 1, 2 o 3 grupos fosfato unidos al anillo del inositol. El **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** (PiP_2, *phosphatidylinositol 4,5, biphosphate*), por ejemplo, se escinde en el **diacilglicerol** e **inositol trifosfato** tras la estimulación, mediante un agonista de hormonas adecuado, y ambos actúan como señales internas o segundos mensajeros.

La cardiolipina es un lípido importante de las membranas mitocondriales

El ácido fosfatídico es un precursor del **fosfatidilglicerol**, que a su vez da lugar a la **cardiolipina** (figura 21-9). Este fosfolípido se encuentra sólo en las mitocondrias y es esencial para la función mitocondrial. La disminución de los niveles de cardiolipina o alteraciones en su estructura o metabolismo causan disfunción mitocondrial en el envejecimiento y en condiciones patológicas que incluyen insuficiencia cardiaca, hipotiroidismo y síndrome de Barth (la miopatía cardioesquelética).

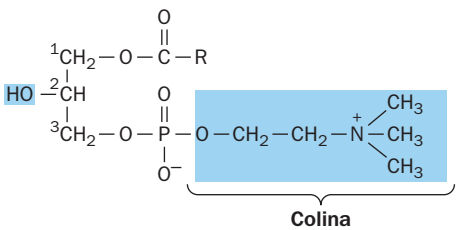


FIGURA 21-12 Lisofosfatidilcolina (lisolecitina).

Los lisofosfolípidos son intermediarios en el metabolismo de los fosfogliceroles

Éstos son fosfoacilgliceroles que contienen sólo un radical de acilo, por ejemplo, la **lisofosfatidilcolina** (**lisolecitina**) (**figura 21-12**), que es importante en el metabolismo y la interconversión de los fosfolípidos. Este compuesto también se encuentra en las lipoproteínas oxidadas y ha estado implicado en algunos de sus efectos en la promoción de la **aterosclerosis**.

Los plasmalógenos se producen en el cerebro y el músculo

Estos compuestos constituyen de 10 a 30% de los fosfolípidos del cerebro y el corazón. Estructuralmente, los plasmalógenos se asemejan a la fosfatidiletanolamina, pero poseen un enlace de éter en el carbono *sn*-1 en lugar del enlace éster que se encuentra en los acilgliceroles. Típicamente, el radical alquilo es un alcohol insaturado (**figura 21-13**). En algunos casos, la colina, la serina o el inositol

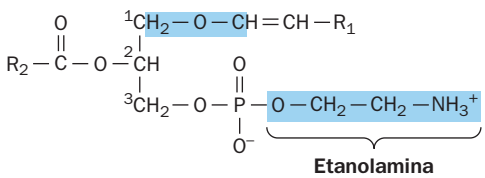


FIGURA 21-13 Plasmalógeno.

pueden ser sustituidos por la etanolamina. La función de los plasmalógenos sigue siendo poco conocida, pero se ha sugerido que pueden tener un efecto protector contra las especies reactivas de oxígeno.

LOS GLUCOLÍPIDOS (GLUCOESFINGOLÍPIDOS) SON IMPORTANTES EN LOS TEJIDOS NERVIOSOS Y EN LA MEMBRANA CELULAR

Los glucolípidos son lípidos unidos a un carbohidrato o cadena de carbohidrato. Están ampliamente distribuidos en todos los tejidos del cuerpo, especialmente en el tejido nervioso, como el cerebro. Se encuentran sobre todo en la hoja externa de la membrana plasmática, donde integran los **carbohidratos de la superficie celular** que forman el **glucocálix** (véase capítulo 15).

Los principales glucolípidos encontrados en los tejidos animales son los glucoesfingolípidos. Contienen ceramida y uno o más azúcares. Las **galactosilceramidas** (**figura 21-14**) son los glucoesfingolípidos principales del cerebro y otros tejidos nerviosos, que se encuentran en cantidades relativamente bajas en otros lugares. Contiene una cantidad de ácidos grasos C24 característicos, por ejemplo, ácido cerebrónico.

La galactosilceramida se puede convertir a sulfogalactosilceramida (la **sulfatida**) que tiene un grupo sulfo unido al O en las tres posiciones de la galactosa y está presente en grandes cantidades en la **mielina**. La **glucosilceramida** se asemeja a la galactosilceramida, pero el grupo principal es la glucosa en lugar de la galactosa. Es el glucoesfingolípido simple predominante de los tejidos extraneurales, que también se produce en el cerebro en pequeñas cantidades. Los **gangliósidos** son glucoesfingolípidos complejos derivados de la glucosilceramida que contienen una o más moléculas adicionales de **ácido siálico**. El **ácido neuramínico** (NeuAc, *neuraminic acid*, véase capítulo 15) es el ácido siálico principal que se encuentra en los tejidos humanos. Los gangliósidos también están presentes en los tejidos nerviosos en altas concentraciones. Funcionan en el reconocimiento y comunicación célula-célula y como receptores de hormonas y toxinas bacterianas como la toxina del cólera. El ganglióside más simple que se encontró en los tejidos es el GM_3, el cual contiene ceramida, una molécula de glucosa, una de galactosa y una de NeuAc. En la nomenclatura abreviada utilizada, G representa ganglióside; M es una especie que contiene monosialo, y el subíndice 3 es un número asignado sobre la base de la migración cromatográfica. El GM_1 (**figura 21-15**), un ganglióside más complejo derivado de GM_3, tiene un interés biológico considerable, debido a que se conoce como el receptor en el intestino humano para la **toxina del cólera**. Otros gangliósidos pueden contener de uno a cinco moléculas de ácido siálico, dando lugar a di-, trisialogangliósidos, etcétera.

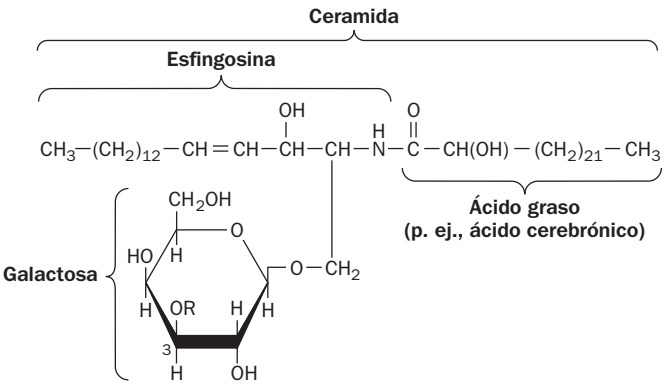


FIGURA 21-14 Estructura de las galactosilceramidas.

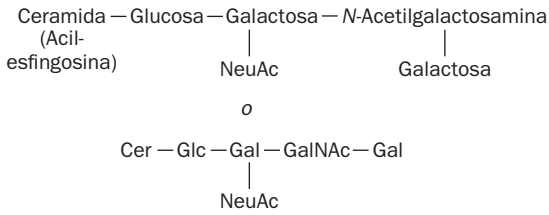


FIGURA 21-15 El ganglióside GM_1, un monosialoganglósido, el receptor en el intestino humano para la toxina del cólera.

LOS ESTEROIDES DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES FISIOLÓGICAMENTE IMPORTANTES

Aunque el **colesterol** es probablemente el mejor conocido por la mayoría de las personas por su asociación con la **aterosclerosis** y la enfermedad cardiaca tiene muchas funciones esenciales en el cuerpo. Es el precursor de una gran cantidad de **esteroides** igualmente importantes que incluyen los **ácidos biliares**, las **hormonas adrenocorticales**, las **hormonas sexuales**, la **vitamina D** (véanse capítulos 26, 41, 44) y los **glucósidos cardiacos**.

Todos los esteroides tienen un núcleo cíclico similar al fenantreno (anillos A, B y C) al que se une un anillo de ciclopentano (D). Las posiciones de carbono en el núcleo del esteroide están numeradas como se muestra en la **figura 21-16**. Es importante darse cuenta de que en fórmulas estructurales de los esteroides, un anillo hexagonal simple denota un anillo de seis carbonos completamente saturado con todas las valencias satisfechas por enlace de hidrógeno a menos que se indique lo contrario; es decir, no es un anillo de benceno. Todos los dobles enlaces se muestran como tal. Las cadenas laterales de metilo se muestran como enlaces simples sin unir en el extremo más alejado (metilo). Esto ocurre típicamente en las posiciones 10 y 13 (que constituyen los átomos de C 19 y 18). Una cadena lateral en la posición 17 es usual (como en el colesterol). Si el compuesto tiene uno o más grupos hidroxilo y no contiene grupos carbonilo o carboxilo, es un **esterol**, y el nombre termina en *-ol*.

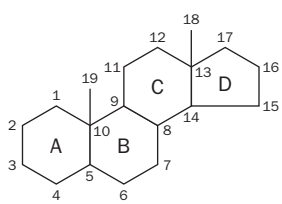


FIGURA 21-16 El núcleo del esteroide.

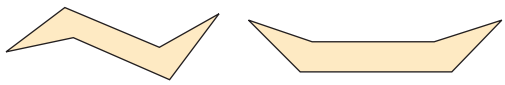


FIGURA 21-17 **Conformaciones de los estereoisómeros del núcleo de esteroide.**

Debido a la asimetría en la molécula de esteroide, muchos estereoisómeros son posibles

Cada uno de los anillos de seis carbonos del núcleo de esteroide es capaz de existir en la conformación tridimensional de una “silla” o un “bote” (**figura 21-17**). En los esteroides naturales, prácticamente todos los anillos están en la forma de “silla”, que es la conformación más estable. Con respecto a cada uno, los anillos pueden ser *cis* o *trans* (**figura 21-18**). La unión entre los anillos A y B puede ser *cis* o *trans* en esteroides naturales. La unión entre B y C es *trans*, como suele ser la unión C/D. Los enlaces que unen los grupos sustituyentes por encima del plano de los anillos (enlaces β) se muestran con líneas sólidas continuas, mientras que los enlaces que se unen a los grupos de abajo (enlaces α) se indican con líneas discontinuas. El anillo A de un esteroide 5α (es decir, el hidrógeno en la posición 5 está en la configuración α) siempre es *trans* al anillo B, mientras que es *cis* en un esteroide 5β (es decir, el hidrógeno en la posición 5 está en la configuración β). Los grupos metilo unidos a C10 y C13 están invariablemente en la configuración β.

El colesterol es un componente importante de muchos tejidos

El colesterol (**figura 21-19**) está ampliamente distribuido en todas las células del cuerpo, pero sobre todo en el tejido nervioso. Es un componente principal de la membrana plasmática (véase capítulo 40) y de las lipoproteínas plasmáticas (véase capítulo 26). A menudo se encuentra como **éster de colesterilo**, donde el grupo hidroxilo en la posición 3 está esterificado con una larga cadena de ácidos grasos. Esto ocurre en los animales pero no en las plantas o bacterias.

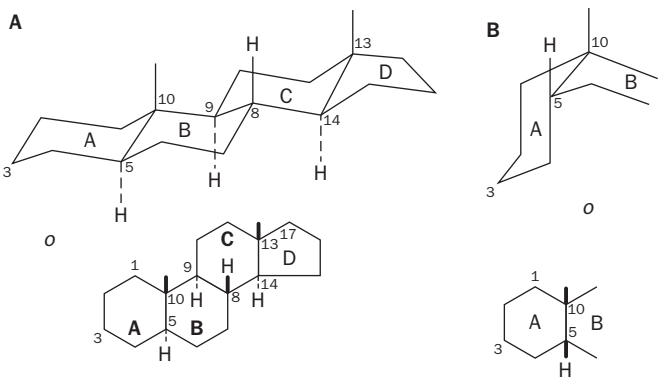


FIGURA 21-18 **Núcleos de esteroides generalizados, que muestran A) una configuración totalmente *trans* entre anillos adyacentes y B) una configuración *cis* entre los anillos A y B.**

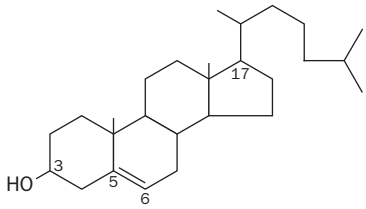


FIGURA 21-19 **Colesterol.**

El ergosterol es un precursor de la vitamina D

El ergosterol se haya en plantas y levaduras y es importante como fuente dietética de la vitamina D (**figura 21-20**). Cuando es irradiado con la luz ultravioleta en la piel, el anillo B se abre para formar la vitamina D_2 en un proceso similar al que forma la vitamina D_3 a partir del 7-dehidrocolesterol en la piel (véase figura 44-3).

Los poliprenoides comparten el mismo compuesto parental que el colesterol

Los **poliprenoides** no son esteroides, pero están relacionados con ellos porque se sintetizan, como el colesterol (véase figura 26-2), a partir de las unidades de isopreno de cinco carbonos (**figura 21-21**). Incluyen la **ubiquinona** (véase capítulo 13), que participa en la cadena respiratoria en las mitocondrias y el alcohol de cadena larga **dolicol** (**figura 21-22**), que participa en la síntesis de las glucoproteínas mediante la transferencia de los residuos de carbohidratos a residuos de la asparagina del polipéptido (véase capítulo 46). Los poliprenoides de origen vegetal incluyen el caucho, el alcanfor, las vitaminas liposolubles A, D, E y K, y el betacaroteno (provitamina A).

LA PEROXIDACIÓN DE LÍPIDOS ES UNA FUENTE DE RADICALES LIBRES

La peroxidación (**autooxidación**) de los lípidos expuestos al oxígeno es responsable no sólo del deterioro de los alimentos (la **rancidad**), sino también del daño a los tejidos *in vivo*, donde puede ser una causa de cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis y de envejecimiento. Se considera que los efectos nocivos son causados por los **radicales libres**, las moléculas que tienen electrones de valencia no apareados, lo que los hace altamente reactivos. Los radicales libres que contienen oxígeno (p. ej., $ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$) se llaman **especies reactivas de oxígeno** (**ROS**, *reactive oxygen species*).

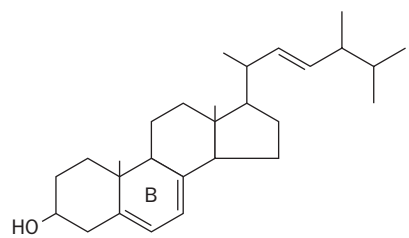


FIGURA 21-20 **Ergosterol.**

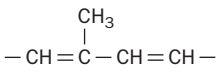


FIGURA 21-21 **Unidad de isopreno.**

FIGURA 21-22 **Dolicol, un alcohol C95.**

Éstos se producen durante la formación del peróxido a partir de los ácidos grasos que contienen dobles enlaces interrumpidos por el metileno, es decir, aquellos encontrados en los ácidos grasos poliinsaturados de origen natural (**figura 21-23**). La **peroxidación lipídica** es una reacción en cadena en la cual los radicales libres se forman en la etapa de iniciación y a su vez generan más (la propagación), y por tanto puede tener efectos potencialmente devastadores. Los procesos de iniciación y propagación se pueden representar de la siguiente manera:

1. Iniciación:

   $ROOH + Metal^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + Metal^{(n-1)+} + H^{+}$
   $X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$

2. Propagación:

   $R^{\bullet} + O^{2} \rightarrow ROO^{\bullet}$
   $ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}$, etc.

   El proceso puede finalizar en la tercera etapa:

3. Terminación:

   $ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$
   $ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$
   $R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$

Los **antioxidantes** se usan para controlar y reducir la peroxidación de lípidos, tanto por los humanos en sus actividades como en la naturaleza. Los propil galatos, el butil hidroxianisol (BHA, *butylated hydroxyanisole*) y el butil hidroxitolueno (BHT, *butylated hydroxytoluene*) son antioxidantes utilizados como aditivos alimentarios. Los antioxidantes de origen natural incluyen la vitamina E (el tocoferol) (véase capítulo 44), que es soluble en lípidos, y el urato y la vitamina C, que son solubles en agua. Los betacarotenos son antioxidantes a baja PO_2. Los antioxidantes se dividen en dos clases: 1) los **antioxidantes preventivos**, que reducen la velocidad de iniciación de la cadena (etapa 1 anterior) y 2) los **antioxidantes rompedores de cadena**, que interfieren con la propagación de la cadena (etapa 2 anterior). Los antioxidantes preventivos incluyen la catalasa y otras peroxidasas como la glutatión peroxidasa (véase figura 20-3) que reaccionan con el ROOH; el selenio, que es un componente esencial de la glutatión peroxidasa y regula su actividad, y los quelantes de iones metálicos tales como etilendiaminotetraacetato (EDTA, *ethylenediaminetetraacetate*) y el dietilentriaminopentaacetato (DTPA, *diethylenetriaminepentaacetate*). *In vivo*, los principales antioxidantes que rompen la cadena son el superóxido dismutasa, que actúa en la fase acuosa para atrapar los radicales libres superóxido ($O_2^{\bullet-}$), y la vitamina E, que actúa en la fase de lípidos para atrapar los radicales $ROO^{\bullet}$.

La peroxidación también es catalizada *in vivo* por los compuestos hem y por las **lipoxigenasas** (véase figura 23-13) que se encuentran en las plaquetas y los leucocitos. Otros productos de autooxidación u oxidación enzimática de importancia fisiológica incluyen los **oxiesteroles** (formados a partir del colesterol) y los **isoprostanos** similares a la prostaglandina (formados a partir de la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados tales como el ácido araquidónico) que se utilizan como marcadores fiables del estrés oxidativo en los humanos.

LOS LÍPIDOS ANFIPÁTICOS SE ORIENTAN EN LA INTERFAZ ACEITE: AGUA

Forman membranas, micelas, liposomas y emulsiones

En general, los lípidos son insolubles en agua debido a que contienen un predominio de grupos no polares (hidrocarbonos). Sin embargo, los ácidos grasos, los fosfolípidos, los esfingolípidos, las sales biliares y, en menor medida, el colesterol contienen grupos

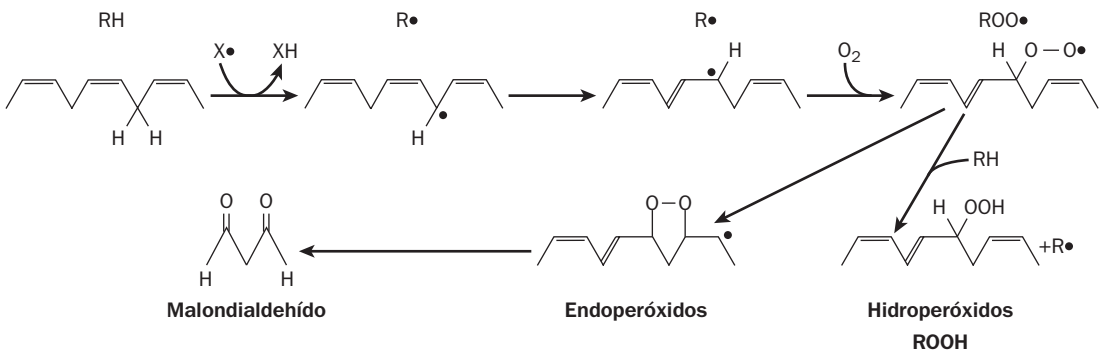


FIGURA 21-23 **Peroxidación lipídica.** La reacción se inicia por un radical libre existente (X•), por luz o por iones metálicos. El malondialdehído sólo está formado por ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, y se usa como una medida de la peroxidación lipídica junto con el etano del terminal de dos carbonos de los ácidos grasos ω3 y pentano de los cinco carbonos terminales de los ácidos grasos ω6.

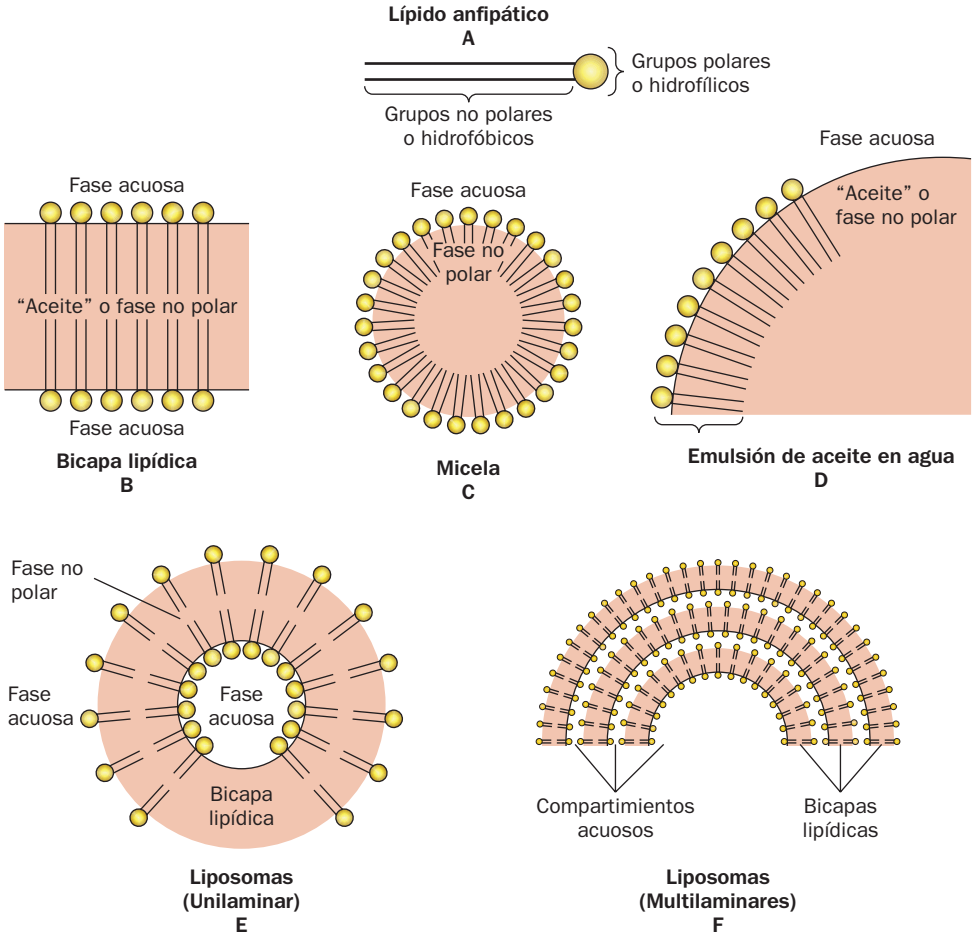


FIGURA 21-24 **Formación de membranas lipídicas, micelas, emulsiones y liposomas a partir de los lípidos anfipáticos, por ejemplo, los fosfolípidos.**

polares. Por tanto, una parte de la molécula es **hidrófoba**, o insoluble en agua, y una parte es **hidrófila** o soluble en agua. Tales moléculas se describen como **anfipáticas** (**figura 21-24**). Se orientan en las interfaces aceite-agua con el grupo polar en la fase acuosa y el grupo no polar en la fase oleosa. Una bicapa de tales lípidos anfipáticos es la estructura básica en las **membranas biológicas** (véase capítulo 40). Cuando una concentración crítica de estos lípidos está presente en el medio acuoso, forman las **micelas**. Los **liposomas** pueden formarse por la sonicación de un lípido anfipático en un medio acuoso. Consisten en esferas de bicapas lipídicas que encierran parte del medio acuoso. La agregación de sales biliares en las micelas y los liposomas, y la formación de **micelas mixtas** con los productos de la digestión de grasas son importantes para facilitar la absorción de los lípidos del intestino. Los liposomas son potencialmente de uso clínico, en especial cuando se combinan con anticuerpos específicos de tejido, como transportadores de fármacos en la circulación dirigidos a órganos blanco, por ejemplo, en la terapia contra el cáncer. Además se utilizan para la transferencia de genes en las células vasculares y como vehículos para la administración tópica y transdérmica de fármacos y cosméticos. Las **emulsiones** son partículas mucho más grandes, generalmente formadas por los lípidos no polares en un medio acuoso. Éstos se estabilizan mediante agentes emulsionantes tales como los lípidos anfipáticos (p. ej., la fosfatidilcolina), que forman una capa superficial que separa el grueso principal del material no polar de la fase acuosa (figura 21-24).

RESUMEN

- Los lípidos tienen la propiedad común de ser relativamente insolubles en agua (hidrófobos) pero solubles en disolventes no polares. Los lípidos anfipáticos también contienen uno o más grupos polares, por lo que son adecuados como constituyentes de las membranas en las interfaces lípido-agua.
- Los lípidos de mayor importancia fisiológica incluyen los ácidos grasos y sus ésteres, junto con el colesterol y otros esteroides.
- Los ácidos grasos de cadena larga pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados, de acuerdo con la cantidad de dobles enlaces presentes. Su fluidez disminuye con la longitud de la cadena y aumenta de acuerdo con el grado de insaturación.
- Los eicosanoides se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos y constituyen un importante grupo fisiológica y farmacológicamente activos conocidos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas.
- Los ésteres de glicerol son cuantitativamente los lípidos más significativos, representados por el triacilglicerol ("grasa"), un constituyente principal de algunas clases de lipoproteínas y la forma de almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo. Los glicerofos-

folípidos y los esfingolípidos son lípidos anfipáticos y tienen funciones importantes como los constituyentes principales de las membranas y la capa externa de las lipoproteínas, como surfactante en el pulmón, precursores de segundos mensajeros y constituyentes del tejido nervioso.

- Los glucolípidos son también componentes importantes del tejido nervioso tales como el cerebro y la capa exterior de la membrana celular, donde contribuyen a los carbohidratos en la superficie celular.
- El colesterol, un lípido anfipático, es un componente importante de las membranas. Es la molécula de origen de la que todos los otros esteroides en el cuerpo, incluyendo las principales hormonas como las adrenocorticales y sexuales, las vitaminas D y los ácidos biliares, se sintetizan.
- La peroxidación de lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados conduce a la generación de radicales libres que dañan los tejidos y causan enfermedades.

REFERENCIAS

Eljamil AS. *Lipid Biochemistry*: *For Medical* Sciences. iUniverse; 2015.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn KN, *et al*. *Lipids, Biochemistry, Biotechnology and Health*. Wiley-Blackwell; 2016.

CAPÍTULO

22

Oxidación de ácidos grasos: la cetogénesis

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y
Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir los procesos por los cuales los ácidos grasos son transportados en la sangre, activados y transportados a la matriz de la mitocondria para su descomposición y así obtener energía.
- Resumir la vía de β-oxidación mediante la cual los ácidos grasos se metabolizan en acetil-CoA y explicar cómo esto conduce a la producción de grandes cantidades de ATP.
- Identificar los tres compuestos denominados "cuerpos cetónicos" y describir las reacciones por las cuales se forman en las mitocondrias del hígado.
- Reconocer que los cuerpos cetónicos son combustibles importantes para los tejidos extrahepáticos e indicar las condiciones en las que se favorece su síntesis y uso.
- Indicar las tres etapas en el metabolismo de los ácidos grasos donde se regula la cetogénesis.
- Indicar que la sobreproducción de cuerpos cetónicos produce cetosis y, si es prolongada, cetoacidosis, e identificar las condiciones patológicas cuando esto ocurre.
- Citar ejemplos de enfermedades asociadas con la oxidación de ácidos grasos alterados.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los ácidos grasos se descomponen en las mitocondrias por oxidación a acetil-CoA en un proceso que genera grandes cantidades de energía. Cuando esta vía avanza a un ritmo elevado, el hígado produce tres compuestos, el **acetoacetato,** el **D-3-hidroxibutirato** y la **acetona**, conocidos colectivamente como **cuerpos cetónicos**. El acetoacetato y el D-3-hidroxibutirato se utilizan como combustible en tejidos extrahepáticos en el metabolismo normal, pero la producción excesiva de cuerpos cetónicos provoca **cetosis**. El aumento de la oxidación de ácidos grasos y, en consecuencia, la cetosis es una característica de la inanición y de la diabetes mellitus. Como los cuerpos cetónicos son ácidos, cuando se producen en exceso durante periodos prolongados, como en la diabetes, causan **cetoacidosis**, que finalmente es mortal. Debido a que la gluconeogénesis depende de la oxidación de los ácidos grasos, cualquier alteración en la oxidación de los ácidos grasos conduce a la **hipoglucemia**. Esto ocurre en varios estados de **deficiencia de carnitina** o deficiencia de enzimas esenciales en la oxidación de ácidos grasos, por ejemplo, la **carnitina palmitoiltransferasa**, o la inhibición de la oxidación de ácidos grasos por venenos, por ejemplo, la **hipoglicina**.

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OCURRE EN LA MITOCONDRIA

Aunque la acetil-CoA es a la vez punto final del catabolismo de los ácidos grasos y el primer sustrato para la síntesis de ácidos grasos, la degradación no es simplemente lo inverso a la ruta biosintética, sino un proceso por completo separado que tiene lugar en un compartimento diferente de la célula. La separación de la oxidación de ácidos grasos en las mitocondrias de la biosíntesis en el citosol permite que cada proceso se controle individualmente y se integre con los requisitos del tejido. Cada paso en la oxidación de ácidos grasos implica derivados de acil-CoA, que se catalizan por enzimas separadas, utilizan NAD^+ y FAD como coenzimas, y generan ATP. Es un proceso aeróbico, que requiere la presencia de oxígeno.

Los ácidos grasos se transportan en la sangre como ácidos grasos libres

Los ácidos grasos libres (FFA, *free fatty acids*) también llamados ácidos grasos sin esterificar (UFA, *unesterified fatty acids*) o no esterificados (NEFA, *non-esterified fatty acids*) (véase capítulo 21), son ácidos grasos que se encuentran en el estado **no esterificado**. En el plasma, los FFA de cadena larga se combinan con **albúmina** y en la célula se unen a una **proteína de unión a ácidos grasos**, de modo que en realidad nunca son realmente "libres". Los ácidos grasos de cadena corta son más solubles en agua y existen como el ácido desionizado o como un anión de ácido graso.

Los ácidos grasos se activan antes de ser catabolizados

Los ácidos grasos primero deben convertirse en un intermediario activo antes de que puedan ser catabolizados. Éste es el único paso en la degradación completa de un ácido graso que requiere energía del ATP. En presencia de ATP y coenzima A, la enzima **acil-CoA sintetasa (tioquinasa)** cataliza la conversión de un ácido graso (o FFA) en un "ácido graso activo" o **acil-CoA**, utilizando un fosfato de alta energía y formando AMP y PP_i **(figura 22-1)**. El PP_i se hidroliza mediante **pirofosfatasa inorgánica** con la pérdida de otro fosfato de alta energía, lo que garantiza que la reacción global se complete. Las acil-CoA sintetasas se encuentran en el retículo endoplásmico, los peroxisomas y en la membrana mitocondrial externa.

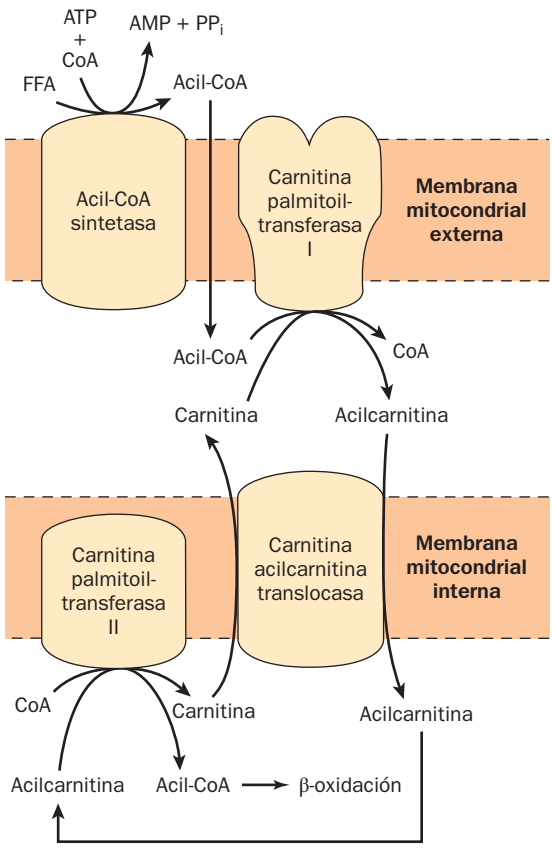


FIGURA 22-1 Papel de la carnitina en el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna. El acil-CoA de cadena larga formado por la acil-CoA sintetasa ingresa al espacio intermembrana. Para el transporte a través de la membrana interna, los grupos acilo deben transferirse de CoA a carnitina por la carnitina palmitoiltransferasa-I. La acilcarnitina formada se lleva luego a la matriz mediante una enzima translocasa a cambio de una carnitina libre y la acil-CoA se reforma con carnitina palmitoiltransferasa-II.

Los ácidos grasos de cadena larga cruzan la membrana mitocondrial interna como derivados de carnitina

La **carnitina** (β-hidroxi-γ-trimetilamonio butirato), $(CH_3)_3N^+{-}CH_2{-}CH(OH){-}CH_2{-}COO^-$, está muy distribuida y es particularmente abundante en los músculos. La acil-CoA de cadena larga (o FFA) no puede penetrar en la membrana mitocondrial interna. En presencia de la carnitina, sin embargo, la **carnitina palmitoiltransferasa-I**, que se encuentra en la membrana mitocondrial externa, transfiere grupos acilo de cadena larga de CoA a la carnitina, formando **acilcarnitina** y liberando CoA. La acilcarnitina es capaz de penetrar en la membrana interna y obtener acceso al sistema de enzimas de β-oxidación a través del transportador de intercambio de membrana interno **carnitina-acilcarnitina translocasa**. El transportador se une a la acilcarnitina y la transporta a través de la membrana a cambio de carnitina. El grupo acilo se transfiere luego a CoA para que se vuelva a formar acil-CoA y se libere carnitina. Esta reacción se cataliza por la **carnitina palmitoiltransferasa-II**, que se encuentra en el interior de la membrana interna (figura 22-1).

LA β-OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS COMPRENDE DIVISIÓN SUCESIVA CON LIBERACIÓN DE ACETIL-COA

En la **figura 22-2,** ruta de la oxidación de ácidos grasos, dos carbonos a la vez se separan de moléculas de acil-CoA, comenzando en

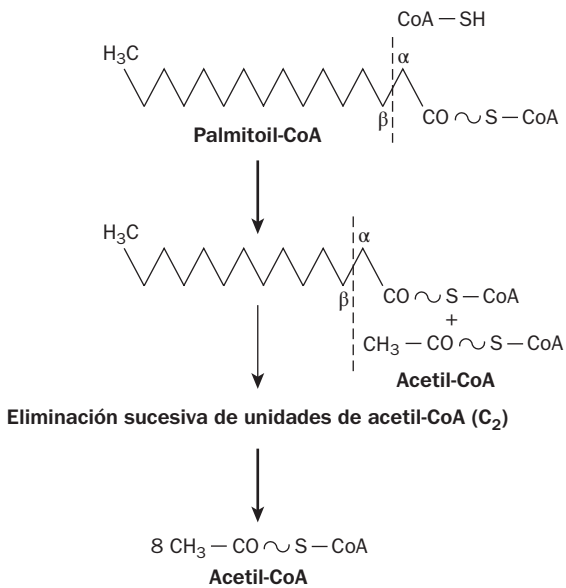


FIGURA 22-2 Descripción de la β-oxidación de ácidos grasos.

el extremo carboxilo. La cadena se rompe entre los átomos de carbono α(2)- y β(3)-, por lo que el proceso se denomina **β-oxidación**. Las unidades de dos carbonos formadas son acetilCoA; así, el palmitoil (C16) -CoA forma ocho moléculas de acetil-CoA.

El ciclo de β-oxidación genera $FADH_2$ y NADH

Varias enzimas, conocidas colectivamente como "ácidos grasos oxidasas", se encuentran en la matriz mitocondrial o en la membrana interna adyacente a la cadena respiratoria. Estos catalizan la oxidación de acil-CoA a acetil-CoA a través de la vía de β-oxidación. El sistema procede de forma cíclica, lo que da como resultado la degradación de ácidos grasos largos a acetil-CoA. En el proceso, se generan grandes cantidades de los equivalentes reductores $FADH_2$ y NADH y se usan para formar ATP mediante fosforilación oxidativa (véase capítulo 13) (**figura 22-3**).

El primer paso es la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los átomos de carbono 2(α)- y 3(β), catalizados por la **acil-CoA deshidrogenasa** y que requieren dinucleótido de adenina flavina (FAD, *flavin adenine dinucleotide*). Esto trae como resultado la formación de Δ^2-*trans*-enoil-CoA y $FADH_2$. Se agrega agua para saturar el doble enlace y formar 3-hidroxiacilCoA, catalizada por **Δ^2-enoil-CoA hidratasa**. El derivado 3-hidroxi sufre una deshidrogenación adicional en el carbono-3 catalizado por la **L-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa** para formar el correspondiente compuesto 3-cetoacil-CoA. En este caso, NAD^+ es la coenzima involucrada. Finalmente, 3-cetoacil-CoA se divide en la posición 2,3 por **tiolasa** (3-cetoacil-CoA-tiolasa), formando el acetil-CoA y un nuevo acil-CoA dos carbonos más cortos que la molécula original de acil-CoA. El acil-CoA más corto formado en la reacción de división vuelve a entrar en la ruta oxidativa en la reacción 2 (figura 22-3). De esta manera, un ácido graso de cadena larga con un número par de carbonos puede degradarse por completo a acetil-CoA (unidades C_2). Por ejemplo, después de siete ciclos, el ácido graso C_{16}, el palmitato, se convertiría en ocho moléculas de acetil-CoA. Dado que el acetil-CoA se puede oxidar en CO_2 y en agua a través del ciclo del ácido cítrico (que también se encuentra dentro de las mitocondrias), se logra la oxidación completa de los ácidos grasos.

Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono se oxidan por la vía de β-oxidación descrita anteriormente que produce acetil-CoA hasta que queda un residuo de tres carbonos (propionil-CoA). Este compuesto se convierte en succinil-CoA, un componente del ciclo del ácido cítrico (véase figura 16-2). Por tanto, **el residuo de propionil de un ácido graso de cadena impar es la única parte de un ácido graso que es glucogénico**.

La oxidación de los ácidos grasos produce una gran cantidad de ATP

Cada ciclo de β-oxidación genera una molécula de $FADH_2$ y una de NADH. La descomposición de 1 mol del ácido graso C_{16}, el palmitato, requiere siete ciclos y produce 8 moles de acetil-CoA. La oxidación de los equivalentes reductores a través de la cadena respiratoria conduce a la síntesis de 28 moles de ATP (**cuadro 22-1** y véase capítulo 13) y la oxidación de acetil-CoA a través del ciclo del ácido cítrico produce 80 moles de ATP (cuadro 22-1 y véase capítulo 16). La descomposición de 1 mol de palmitato, por tanto, arroja un total bruto de 108 moles de ATP. Sin embargo, se usan dos fosfatos de

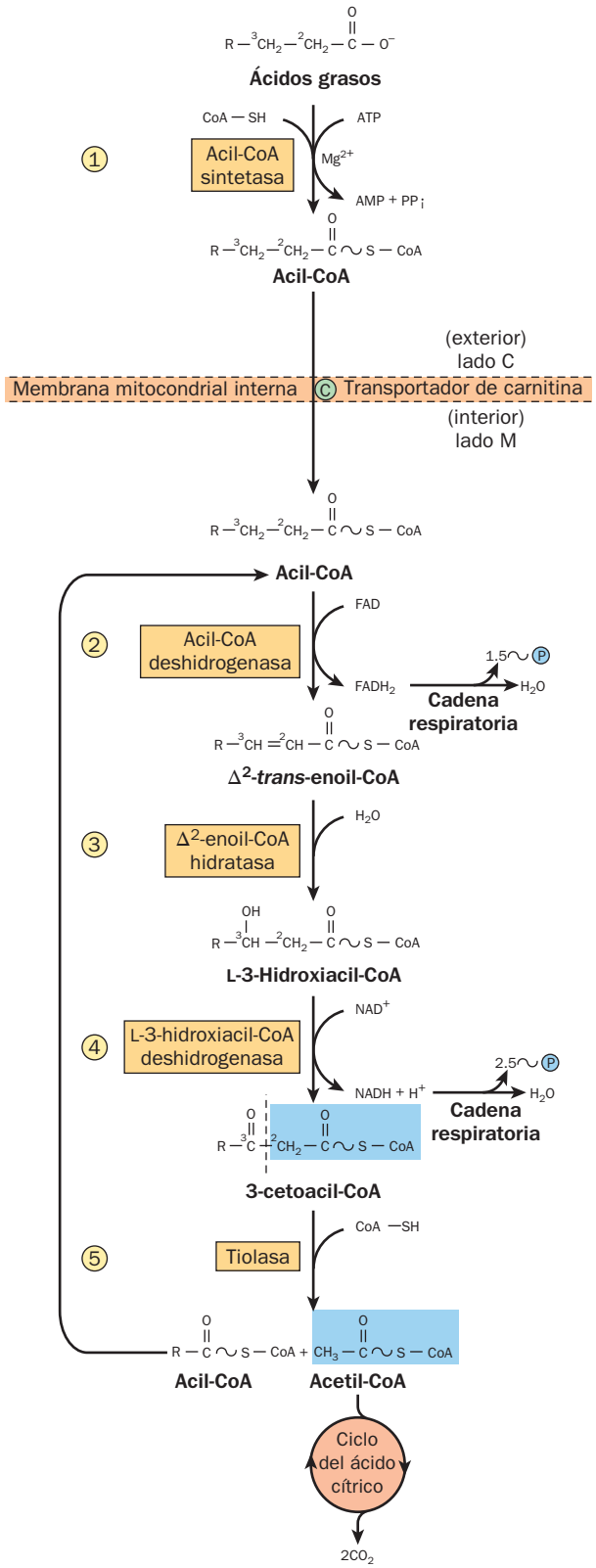


FIGURA 22-3 La β-oxidación de ácidos grasos. El acil-CoA de cadena larga se cicla a través de las reacciones ② a ⑤, estando el acetil-CoA separado, en cada ciclo, por la tiolasa (reacción ⑤). Cuando el radical acilo tiene sólo cuatro átomos de carbono, se forman dos moléculas de acetil-CoA en la reacción ⑤.

CUADRO 22-1 Generación de ATP a partir de la oxidación completa de un ácido graso C_{16}

Paso	Producto	Cantidad de producto generado (mol)/mol Palmitato	ATP generada (mol)/mol producto	Total de ATP generada (mol)/mol palmitato	ATP empleada (mol)/mol palmitato
Activación		–			2
β-oxidación	$FADH_2$	7	1.5	10.5	–
β-oxidación	NADH	7	2.5	17.5	–
Ciclo del ácido cítrico	Acetil-CoA	8	10	80	–
	Total de ATP generado (mol)/mol palmitato			108	
	Total de ATP empleado(mol)/mol palmitato				2

El cuadro muestra cómo la oxidación de 1 mol del ácido graso C_{16}, palmitato, genera 106 moles de ATP (108 generados en total; 2 empleados en la etapa de activación).

alta energía en el paso de activación inicial (figura 22-3), por lo que hay una ganancia neta de 106 moles de ATP por mol de palmitato utilizado (cuadro 22-1), o 106 × 30.5* = 3 233 kJ. Esto representa 33% de la energía liberada en la combustión del ácido palmítico.

Los peroxisomas oxidan los ácidos grasos de cadena muy larga

Una forma modificada de β-oxidación se encuentra en los **peroxisomas** y conduce a la descomposición de los ácidos grasos de cadena muy larga (p. ej., C_{20}, C_{22}) con la formación de acetil-CoA y H_2O_2, que se descompone por catalasa (véase capítulo 12). Este sistema no está directamente relacionado con la fosforilación y la generación de ATP, y tampoco ataca los ácidos grasos de cadena corta; la secuencia de β-oxidación termina en octanoil-CoA. Los grupos octanoilo y acetilo se oxidan aún más en las mitocondrias. Las enzimas peroxisomales son inducidas por dietas ricas en grasas y en algunas especies por fármacos hipolipidémicos como el clofibrato.

Otro papel de la β-oxidación peroxisomal es acortar la cadena lateral de colesterol en la formación de ácidos biliares (véase capítulo 26). Los peroxisomas también participan en la síntesis de éter glicerolípidos (véase capítulo 24), colesterol y dolicol (véase figura 26-2).

La oxidación de los ácidos grasos insaturados se produce por una vía de β-oxidación modificada

Los ésteres CoA de ácidos grasos insaturados son degradados por las enzimas normalmente responsables de la β-oxidación hasta que se forma un compuesto Δ^3-*cis*-acil-CoA o un compuesto Δ^4-cis-acil-CoA, dependiendo de la posición de los dobles enlaces (**figura 22-4**). El primer compuesto se isomeriza (Δ^3***cis*** → **Δ^2-*trans*-enoil-CoA isomerasa**) en la correspondiente etapa Δ^2-*trans*-CoA de β-oxidación para la posterior hidratación y oxidación. Cualquier Δ^4-cis-acil-CoA que permanezca, como en el caso del ácido linoleico, o que ingrese a la vía en este punto después de la conversión de la acil-CoA deshidrogenasa en Δ^2-*trans*-Δ^4-*cis*-dienoil-CoA, se metaboliza luego como está indicado en la figura 22-4.

LA CETOGÉNESIS OCURRE CUANDO HAY UNA ALTA TASA DE OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL HÍGADO

En condiciones metabólicas asociadas a una alta tasa de oxidación de ácidos grasos, el hígado produce cantidades considerables de **acetoacetato** y **D-3-hidroxibutirato** (betahidroxibutirato). El acetoacetato se somete continuamente a una descarboxilación espontánea para producir **acetona**. Estas tres sustancias se conocen colectivamente como **cuerpos cetónicos** (también llamados cuerpos de acetona o [incorrectamente]* "cetonas") (**figura 22-5**). El acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son interconvertidos por la enzima mitocondrial **D-3-hidroxibutirato deshidrogenasa**; el equilibrio está controlado por la relación mitocondrial [NAD^+]/[NADH], es decir, el **estado redox**. La concentración de cuerpos cetónicos totales en la sangre de mamíferos bien alimentados normalmente no excede 0.2 mmol/L. Sin embargo, en los rumiantes, el 3-hidroxibutirato se forma de modo continuo a partir del ácido butírico (un producto de la fermentación ruminal) en la pared del rumen. En los no ruminales, el hígado parece ser el único órgano que agrega cantidades significativas de cuerpos cetónicos a la sangre. Los tejidos extrahepáticos utilizan acetoacetato y 3-hidroxibutirato como sustratos respiratorios. La acetona es un producto de desecho que, como es volátil, puede excretarse a través de los pulmones. Debido a que existe una síntesis activa pero poca utilización de cuerpos cetónicos en el hígado, mientras se usan pero no se producen en tejidos extrahepáticos, existe un flujo neto de los compuestos hacia los tejidos extrahepáticos (**figura 22-6**).

El acetoacetil-CoA es el sustrato para la cetogénesis

Las enzimas responsables de la formación del cuerpo de la cetona (cetogénesis) se asocian principalmente con las mitocondrias. El acetoacetil-CoA se forma cuando dos moléculas de acetil-CoA producidas a través de la descomposición de los ácidos grasos se condensan para formar acetoacetil-CoA mediante una inversión de la reacción de **tiolasa** (figura 22-3) y también pueden surgir directa-

* ΔG para la reacción de ATP, como se explica en capítulo 11.

* El término cetonas no debe usarse ya que hay cetonas en la sangre que no son cuerpos cetónicos, por ejemplo, el piruvato y la fructosa.

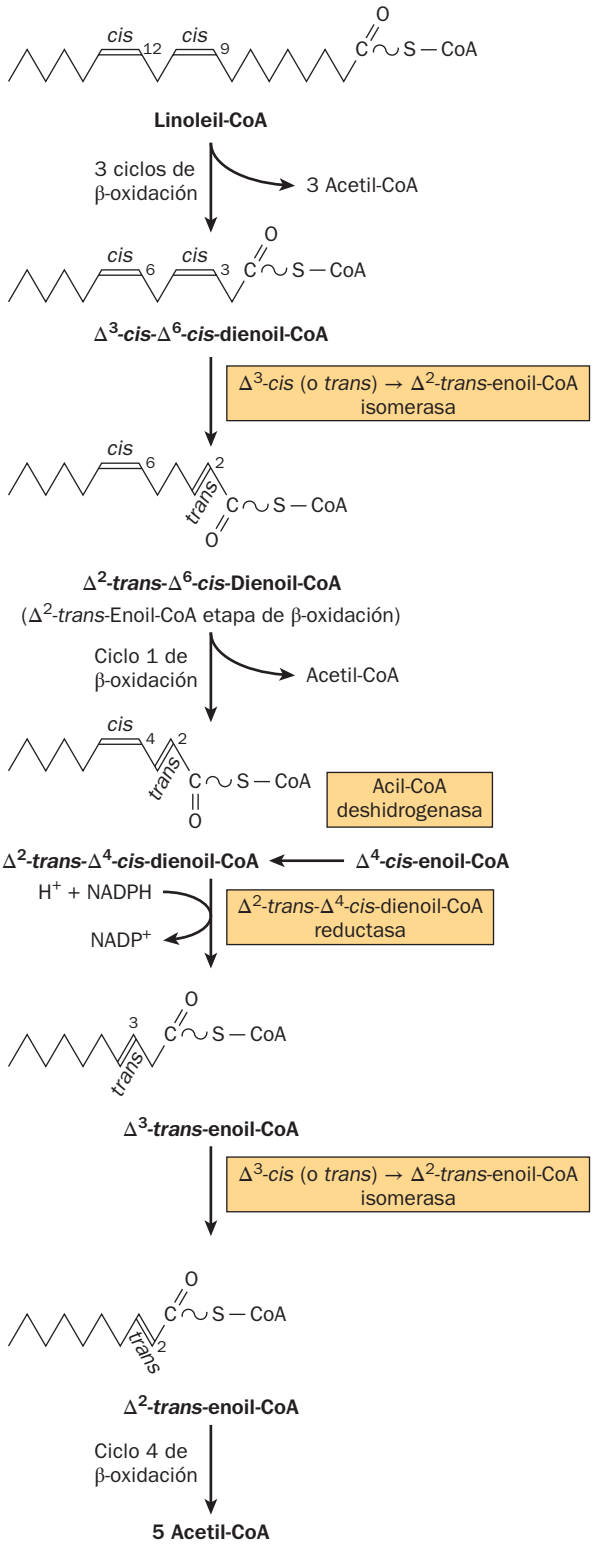


FIGURA 22-4 **Secuencia de reacciones en la oxidación de ácidos grasos insaturados, por ejemplo, ácido linoleico.** Los ácidos grasos Δ^4-*cis* o ácidos grasos que forman Δ^4-*cis*-enoil-CoA entran en la ruta en la posición que se muestra. El NADPH para la etapa de dienoil-CoA reductasa es suministrado por fuentes intramitocondriales tales como la glutamato deshidrogenasa, la isocitrato deshidrogenasa y la NAD(P)H transhidrogenasa.

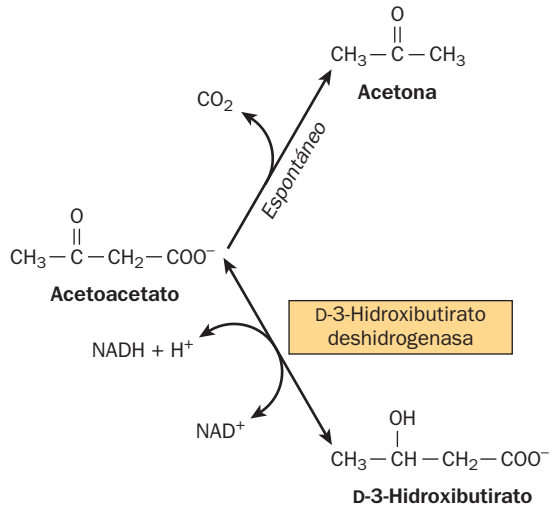


FIGURA 22-5 **Interrelaciones de los cuerpos cetónicos.** El D-3-Hidroxibutirato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial.

mente de los cuatro carbonos terminales de un ácido graso durante la β-oxidación (**figura 22-7**). La condensación de acetoacetil-CoA con otra molécula de acetil-CoA mediante la **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA** sintasa forma HMG-CoA. La **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa** hace entonces que la acetil-CoA se separe de la HMGCoA, lo que deja acetoacetato libre.

Ambas enzimas deben estar presentes en las mitocondrias para que tenga lugar la cetogénesis. En los mamíferos, los cuerpos cetónicos se forman únicamente en el hígado y en el epitelio ruminal. El D-3-hidroxibutirato es cuantitativamente el cuerpo de cetona predominante presente en la sangre y en la orina durante la cetosis.

Los cuerpos cetónicos sirven como combustible para los tejidos extrahepáticos

Mientras que un mecanismo enzimático activo produce acetoacetato de acetoacetil-CoA en el hígado, el acetoacetato una vez formado sólo puede reactivarse directamente en el citosol, donde se usa en una vía diferente, mucho menos activa, como precursor en la síntesis del colesterol (capítulo 26). Esto explica la producción neta de cuerpos cetónicos por el hígado.

En los tejidos extrahepáticos, el acetoacetato se activa a acetoacetil-CoA por la **succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa**. El CoA se transfiere de succinil-CoA para formar acetoacetil-CoA (**figura 22-8**). En una reacción que requiere la adición de un CoA, se forman dos moléculas de acetil-CoA mediante la división de acetoacetil-CoA por tiolasa y éstas se oxidan en el ciclo del ácido cítrico; 1 mol de acetoacetato o 3-hidroxibutirato produce 19 o 21.5 moles de ATP, respectivamente, por estas vías. Si el nivel en sangre de los cuerpos cetónicos aumenta a una concentración de ~12 mmol/L, la maquinaria oxidativa se satura y, en esta etapa, una gran proporción del consumo de oxígeno puede explicarse por su oxidación.

En la cetonemia moderada, la pérdida de cuerpos cetónicos a través de la orina es sólo un pequeño porcentaje de la producción y utilización totales de cuerpos cetónicos. Dado que existen efectos similares en los umbrales renales (no existe un verdadero umbral) que varían entre especies e individuos, la medición de la cetone-

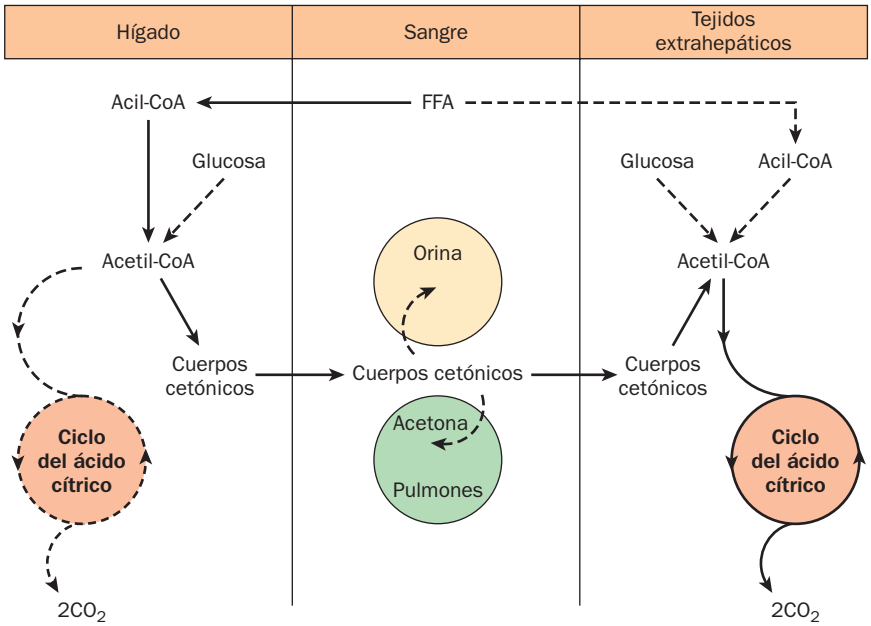


FIGURA 22-6 **Formación, utilización y excreción de cuerpos cetónicos.** (La vía principal está indicada por las flechas continuas.)

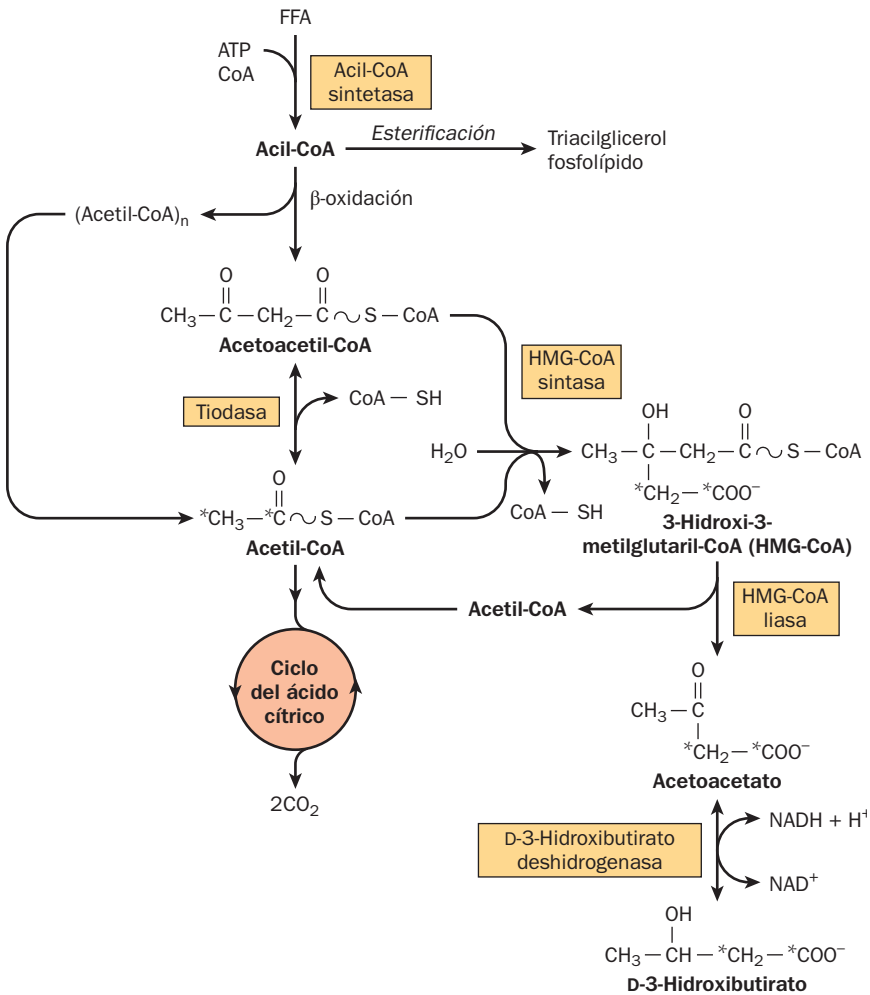


FIGURA 22-7 **Vías de la cetogénesis en el hígado** (FFA, ácidos grasos libres).

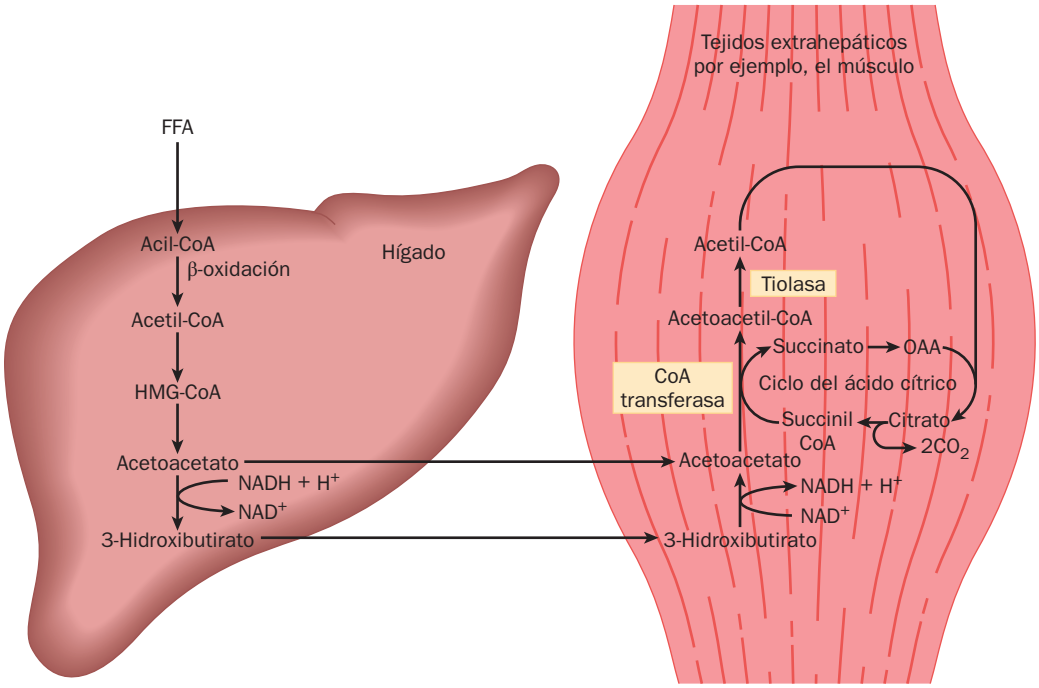


FIGURA 22-8 **Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos.**

mia, no la cetonuria, es el método preferido para evaluar la gravedad de la cetosis.

LA CETOGÉNESIS ESTÁ REGULADA EN TRES ETAPAS CRUCIALES

1. La cetosis no ocurre *in vivo* a menos que haya un aumento en el nivel de FFA circulantes que surgen de la lipólisis del triacilglicerol en el tejido adiposo. **Los FFA son los precursores de cuerpos cetónicos en el hígado**. El hígado en condiciones tanto posprandiales como de ayuno, extrae alrededor de 30% de los FFA que pasan por él, de modo que a concentraciones altas el flujo que pasa hacia el hígado es considerable. **Por tanto, los factores que regulan la movilización de FFA del tejido adiposo son importantes para controlar la cetogénesis (figuras 22-9** y 25-8).

2. Después de la absorción por el hígado, los FFA se **oxidan** a CO_2 o cuerpos de cetona o se **esterifican** a triacilglicerol y fosfolípido. Existe una regulación de la entrada de ácidos grasos en la ruta oxidativa por **la carnitina palmitoiltransferasa-I** (CPT-I, *carnitine palmitoyltransferase-I*) (figura 22-1), y el resto del ácido graso filtrado está esterificado. La actividad de CPT-I es baja en el estado de alimentación, lo que lleva a la depresión de la oxidación de ácidos grasos y a un alto nivel de inanición, lo cual permite que aumente la oxidación de los ácidos grasos. El **malonil-CoA**, el intermediario inicial en la biosíntesis de ácidos grasos (véase figura 23-1) es un potente inhibidor de CPT-I (**figura 22-10**). En el estado de alimentación, por tanto, los FFA ingresan a la célula hepática en bajas concentraciones y casi todos se esterifican a acilgliceroles y se transportan fuera del hígado en **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL, *very low density lipoproteins*). Sin embargo, como la concentración de FFA aumenta con el inicio de la inanición, la acetil-CoA carboxilasa es inhibida directamente por acil-CoA y el malonil-CoA disminuye, liberando la inhibi-

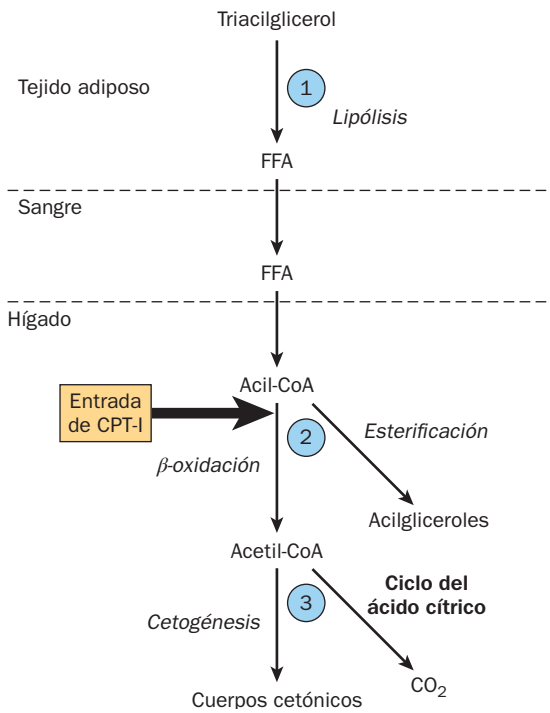


FIGURA 22-9 **La regulación de la cetogénesis.** Del (1) al (3) muestra los tres pasos cruciales en la ruta del metabolismo de los ácidos grasos libres (FFA) que determinan la magnitud de la cetogénesis (CPT-I).

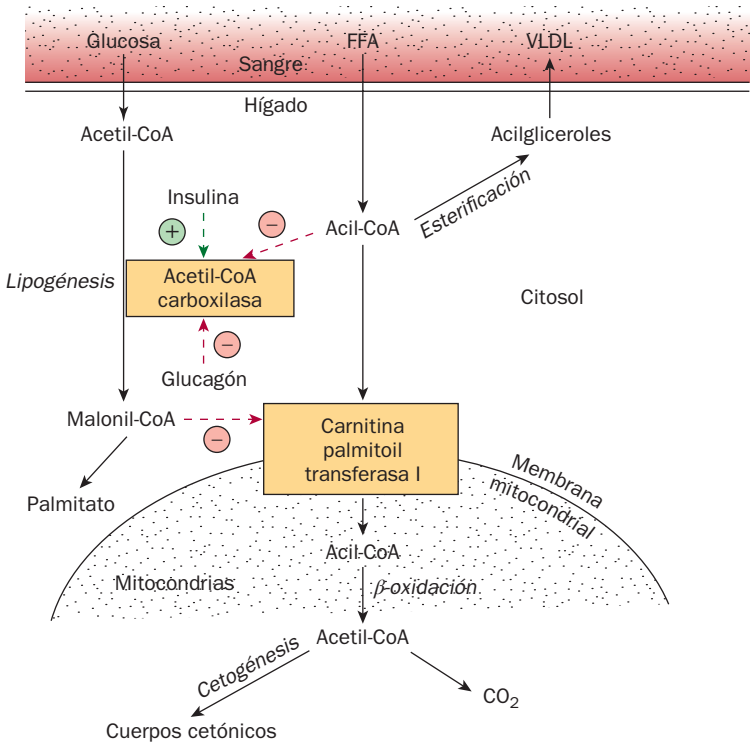


FIGURA 22-10 Regulación de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en el hígado (FFA: ácidos grasos libres; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad). Los efectos reguladores positivos (⊕) y negativos (⊖) están representados por flechas rotas y el flujo de sustrato por flechas sólidas.

ción de CPT-I y permitiendo que más acil-CoA sea betaoxidado. Estos eventos se ven reforzados en la inanición por una disminución en la **relación (insulina)/(glucagón)**. Por tanto, la β-oxidación de FFA se controla mediante la entrada de CPT-I en la mitocondria, y el equilibrio de la absorción de FFA no oxidado se esterifica.

3. A su vez, la acetil-CoA formada en β-oxidación se oxida en el ciclo del ácido cítrico, o entra en la ruta de la cetogénesis a través de la aetoacetil-CoA para formar cuerpos cetónicos. A medida que aumenta el nivel de FFA en suero, proporcionalmente más de la acetil-CoA producida a partir de su degradación se convierte en cuerpos cetónicos y se oxida menos a través del ciclo de ácido cítrico a CO_2. La partición del acetil-CoA entre la ruta cetogénica y la vía de oxidación a CO_2 se regula de modo que la energía desprendida total capturada en ATP que resulta de la oxidación de FFA permanezca constante a medida que cambia su concentración en el suero. Esto puede apreciarse cuando se observa que la oxidación completa de 1 mol de palmitato implica una producción neta de 106 moles de ATP por β-oxidación y el ciclo de ácido cítrico (véase antes), mientras que sólo se producen 26 moles de ATP cuando el acetoacetato es el producto final y sólo 16 moles cuando el 3-hidroxibutirato es el producto final. Por tanto, la cetogénesis puede considerarse como un mecanismo que permite al hígado oxidar cantidades crecientes de ácidos grasos dentro de las limitaciones de un sistema estrechamente acoplado de fosforilación oxidativa.

Una caída en la concentración de oxaloacetato, particularmente dentro de las mitocondrias, puede afectar la capacidad del ciclo del ácido cítrico para metabolizar el acetil-CoA y desviar la oxidación de los ácidos grasos hacia la cetogénesis. Dicha caída puede ocurrir debido a un aumento en la relación (NADH)/(NAD^+) causado cuando la β-oxidación aumentada altera el equilibrio entre el oxaloacetato y el malato de modo que la concentración de oxaloacetato disminuye, y también cuando la gluconeogénesis se eleva debido a niveles bajos de glucosa en sangre. La activación por acetil-CoA de piruvato carboxilasa, que cataliza la conversión del piruvato en oxaloacetato, alivia parcialmente este problema, pero en condiciones tales como la inanición y la diabetes mellitus no tratada, los cuerpos cetónicos se producen en exceso y causan cetosis.

ASPECTOS CLÍNICOS

La oxidación deteriorada de los ácidos grasos aumenta las enfermedades a menudo asociadas con la hipoglucemia

La **insuficiencia de carnitina** puede ocurrir particularmente en los recién nacidos, y en especial en los recién nacidos prematuros, debido a una biosíntesis inadecuada o filtración renal. Las pérdidas también pueden ocurrir en las hemodiálisis. Esto sugiere que puede haber un requisito dietético similar a la vitamina para la carnitina en algunas personas. Los síntomas de deficiencia incluyen la hipoglucemia, que es una consecuencia de la alteración de la oxidación de los ácidos grasos y la acumulación de lípidos con debilidad muscular. El tratamiento es por suplementos orales con carnitina.

La **deficiencia de CPT-I** heredada sólo afecta al hígado, lo que resulta en una reducción de la oxidación y la cetogénesis de los

ácidos grasos, con hipoglucemia. La **deficiencia de CPT-II** afecta principalmente al músculo esquelético y, cuando es grave, al hígado. Los fármacos de sulfonilureas (**gliburida [glibenclamida]** y **tolbutamida**), utilizados en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, reducen la oxidación de los ácidos grasos y, por tanto, la hiperglucemia al inhibir la CPT-I.

Los defectos heredados en las enzimas de β-oxidación y cetogénesis también conducen a hipoglucemia no cetósica, coma e hígado graso. Se han identificado defectos en las cadenas larga y corta de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa (la deficiencia de la enzima de cadena larga puede ser una **causa de hígado graso agudo en el embarazo**). La deficiencia de **3-cetoacil-CoA-tiolasa** y **HMG-CoA liasa** también afectan la degradación de la leucina, un aminoácido cetogénico (véase capítulo 29).

La **enfermedad del vómito jamaicano** es causada por comer la fruta sin madurar del árbol del akee, que contiene la toxina **hipoglicina**. Esto inactiva la acil-CoA deshidrogenasa de cadenas media y corta, inhibe la β-oxidación y causa hipoglucemia. La **aciduria dicarboxílica** se caracteriza por la excreción de ácidos C_6–C_{10}ω-dicarboxílicos y por hipoglucemia no cetósica, y es causada por la falta de **acil-CoA deshidrogenasa de cadena media** mitocondrial. La **enfermedad de Refsum** es un raro desorden neurológico causado por un defecto metabólico que resulta en la acumulación de ácido fitánico, que se encuentra en los productos lácteos y en la carne y la grasa de los rumiantes. Se cree que el ácido fitánico tiene efectos patológicos sobre la función de la membrana, la prenilación de proteínas y la expresión génica. El **síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal)** ocurre en individuos con una rara ausencia hereditaria de peroxisomas en todos los tejidos. Ellos acumulan ácidos polienoicos C_{26}–C_{38} en el tejido cerebral y también exhiben una pérdida generalizada de las funciones peroxisomales. La enfermedad causa síntomas neurológicos graves y la mayoría de los pacientes muere durante el primer año de vida.

Los resultados de la cetoacidosis en la cetosis prolongada

Las cantidades más altas de lo habitual de cuerpos cetónicos presentes en la sangre u orina constituyen **cetonemia** (hipercetonemia) o **cetonuria**, respectivamente. La condición general se llama **cetosis**. La forma básica de la cetosis ocurre en la **inanición** e implica el agotamiento de los carbohidratos disponibles junto con la movilización de FFA. Este patrón general de metabolismo se exagera para producir los estados patológicos encontrados en la **diabetes mellitus, cuya forma tipo 2 es cada vez más común en los países occidentales,** la **enfermedad del cordero gemelo,** y la **cetosis en ganado lactante**. Las formas no patológicas de cetosis se encuentran en condiciones de alta alimentación de grasa y después de ejercicio severo en el estado de posabsorción. Los ácidos cetoacético y 3-hidroxibutírico son moderadamente fuertes y se atenúan cuando están presentes en la sangre u otros tejidos. Sin embargo, su continua excreción en cantidad agota de modo progresivo la reserva de álcalis, causando **cetoacidosis**. Esto puede ser fatal en la **diabetes mellitus** no controlada.

RESUMEN

- La oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias conduce a la generación de grandes cantidades de ATP mediante un proceso llamado β-oxidación que separa secuencialmente las unidades de acetil-CoA de las cadenas de acilo graso. La acetil-CoA se oxida en el ciclo del ácido cítrico, generando más ATP.
- Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona) se forman en las mitocondrias hepáticas cuando hay una alta tasa de oxidación de ácidos grasos. La vía de la cetogénesis implica la síntesis y la descomposición de HMG-CoA por dos enzimas clave: HMG-CoA sintasa y HMG-CoA liasa.
- Los cuerpos de cetona son combustibles importantes en los tejidos extrahepáticos.
- La cetogénesis está regulada en tres pasos cruciales: 1) control de la movilización de FFA del tejido adiposo; 2) la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa-I en el hígado, que determina la proporción del flujo de ácido graso que se oxida en lugar de esterificarse, y 3) partición del acetil-CoA entre la ruta de la cetogénesis y el ciclo del ácido cítrico.
- Las enfermedades asociadas con el deterioro de la oxidación de los ácidos grasos provocan hipoglucemia, infiltración grasa de los órganos e hipocetonemia.
- La cetosis es leve en la inanición, pero intensa en la diabetes mellitus y la cetosis de los rumiantes.

REFERENCIAS

Eljamil AS. *Lipid Biochemistry: For Medical Sciences*. iUniverse; 2015.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn KN, *et al*. *Lipids, Biochemistry, Biotechnology and Health*. Wiley-Blackwell; 2016.

Houten SM, Wanders RJA. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β-oxidation. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:469.

CAPÍTULO

23

Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir la reacción catalizada por la acetil-CoA carboxilasa y comprender los mecanismos por los cuales su actividad está regulada para controlar la tasa de síntesis de ácidos grasos.
- Resumir la estructura del complejo multienzimático de la ácido graso sintasa, indicando la secuencia de enzimas en las dos cadenas peptídicas del homodímero.
- Explicar cómo se sintetizan los ácidos grasos de cadena larga mediante la condensación repetida de dos unidades de carbono, favoreciendo la formación del palmitato de 16 carbonos en la mayoría de los tejidos e identificar los cofactores necesarios.
- Indicar las fuentes de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácidos grasos.
- Explicar cómo la síntesis de ácidos grasos está regulada por el estado nutricional e identificar otros mecanismos de control que operan además de la modulación de la actividad de la acetil-CoA carboxilasa.
- Identificar los ácidos grasos nutricionalmente esenciales y explicar por qué no se pueden formar en el cuerpo.
- Explicar cómo los ácidos grasos poliinsaturados son sintetizados por desaturasa y enzimas de elongación.
- Describir las vías de la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa responsables de la formación de las diversas clases de eicosanoides.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los ácidos grasos se sintetizan por el **sistema extramitocondrial**, que es responsable de la síntesis completa de palmitato a partir del acetil-CoA en el **citosol**. En la mayoría de los mamíferos, la glucosa es el sustrato principal para la lipogénesis, pero en los rumiantes es el acetato, la principal molécula de combustible que obtienen de la dieta. Las enfermedades críticas de ruta sintética no se han reportado en humanos. Sin embargo, la inhibición de la lipogénesis ocurre en la **diabetes mellitus** tipo 1 (insulinodependiente), y las variaciones en la actividad del proceso afectan la naturaleza y el alcance de la **obesidad**.

Los ácidos grasos insaturados en los fosfolípidos de la membrana celular son importantes para mantener la fluidez de la membrana (véase capítulo 40). Se considera que una proporción alta de ácidos grasos poliinsaturados a ácidos grasos saturados (relación P:S) en la dieta es beneficiosa para prevenir la enfermedad coronaria. Los tejidos animales tienen una capacidad limitada para desaturar ácidos grasos y requieren ciertos ácidos grasos poliinsaturados dietéticos derivados de plantas. Estos **ácidos grasos esenciales** se usan para formar ácidos grasos eicosanoicos (C_{20}), que dan lugar a los **eicosanoides**, las prostaglandinas, los tromboxanos, los leucotrienos y las lipoxinas. Las prostaglandinas median la **inflamación**, el **dolor**, inducen el **sueño** y también regulan la **coagulación sanguínea** y la **reproducción**. Los **medicamentos antiinflamatorios no esteroideos** (**NSAID**, *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*) como la **aspirina** y el **ibuprofeno** actúan inhibiendo la síntesis de prostaglandinas. Los leucotrienos tienen propiedades contráctiles musculares y quimiotácticas y son importantes en las reacciones alérgicas y la inflamación.

LA VÍA PRINCIPAL PARA LA SÍNTESIS *DE NOVO* DE LOS ÁCIDOS GRASOS (LA LIPOGÉNESIS) OCURRE EN EL CITOSOL

Este sistema está presente en muchos tejidos, incluidos hígado, riñón, cerebro, pulmón, glándula mamaria y tejido adiposo. Sus re-

querimientos de cofactor incluyen NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y HCO_3^- (como fuente de CO_2). El **acetil-CoA** es el sustrato inmediato y el **palmitato libre** es el producto final.

La producción de malonil-CoA es el paso inicial y de control en la síntesis de ácidos grasos

El bicarbonato como fuente de CO_2 se requiere en la reacción inicial para la carboxilación de acetil-CoA a **malonil-CoA** en presencia de ATP y **acetil-CoA carboxilasa**. Esta enzima tiene un papel principal en la regulación de la síntesis de ácidos grasos (véase a continuación). La acetil-CoA carboxilasa tiene un requerimiento para la vitamina B **biotina** y es una **proteína multienzimática** que contiene biotina, biotina carboxilasa, proteína portadora de biotina carboxilo y una carboxiltransferasa, así como un sitio alostérico regulador. Una subunidad del complejo contiene todos los componentes, y el número variable de subunidades forma polímeros en la enzima activa (véase figura 23-6). La reacción tiene lugar en dos pasos: 1) carboxilación de biotina que implica ATP y 2) transferencia del grupo carboxilo a acetil-CoA para formar malonil-CoA (**figura 23-1**).

El complejo ácido graso sintasa es un homodímero de dos cadenas polipeptídicas que contienen seis actividades enzimáticas y la proteína portadora de acilo

Después de la formación de malonil-CoA, los ácidos grasos se forman mediante el **complejo enzimático de ácido graso sintasa**. Las enzimas individuales requeridas para la síntesis de ácidos grasos están enlazadas en este complejo de polipéptido multienzimático que incorpora la **proteína portadora de acilo** (**ACP**, *acyl carrier protein*), que tiene una función similar a la de CoA en la vía de betaoxidación (véase capítulo 22). Contiene la vitamina **pantoténica acidin** en forma de 4'-fosfopanteteína (véase figura 44-15). En la estructura primaria de la proteína, los dominios de la enzima están vinculados en la secuencia como se muestra en la **figura 23-2**. La cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional, sin embargo, ha demostrado que el complejo es un homodímero, con dos subunidades idénticas, cada una con seis enzimas y un ACP, dispuestas en forma de X (figura 23-2). El uso de una unidad funcional multienzimática tiene la ventaja de lograr la compartimentación del proceso dentro de la célula sin la necesidad de barreras de permeabilidad, y la síntesis de todas las enzimas en el complejo se coordina ya que está codificada por un único gen.

Inicialmente, una molécula cebadora de acetil-CoA se combina con un grupo cisteína —SH (**figura 23-3**, reacción 1a), mientras que el malonil-CoA se combina con la SH adyacente sobre la 4'-fosfopanteteína de ACP del otro monómero (reacción 1b). Estas reacciones son catalizadas por la **malonil acetil transacilasa**, para formar la **enzima acetil (acil)-malonilo**. El grupo acetilo ataca al grupo metileno del residuo de malonilo, catalizado por la **3-cetoacil sintasa**, y libera CO_2, formando la **enzima 3-cetoacilo** (enzima acetoacetilo) (reacción 2), liberando al grupo cisteína —SH. La descarboxilación permite que la reacción llegue a completarse, tirando de la secuencia completa de reacciones en la dirección de avance. El grupo 3-cetoacilo se reduce, se deshidrata y se reduce de nuevo (reacciones 3-5) para formar la **enzima de acilo saturada** correspondiente (producto de la reacción 5). Una nueva molécula de malonil-CoA se combina con la —SH de la 4'-fosfopanteteína, desplazando el residuo de acilo saturado al grupo de cisteína —SH libre. La secuencia de reacciones se repite seis veces más hasta que se ha implantado un radical acilo de 16 carbonos saturado (palmitoil). Se libera del complejo enzimático por la actividad de la sexta enzima en el complejo, **tioesterasa** (deacilasa). El palmitato libre se debe activar a acil-CoA antes de que pueda proceder a través de cual-

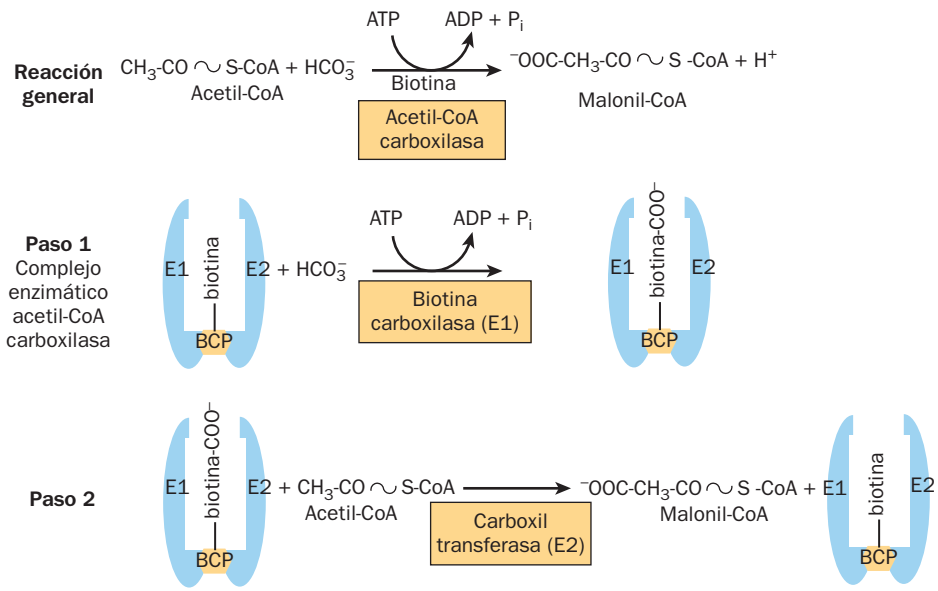
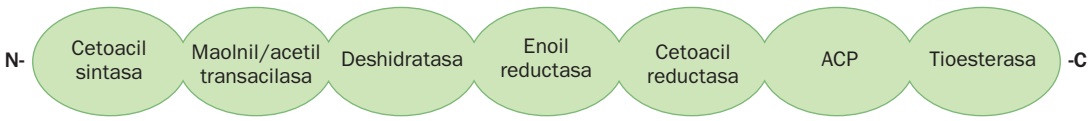
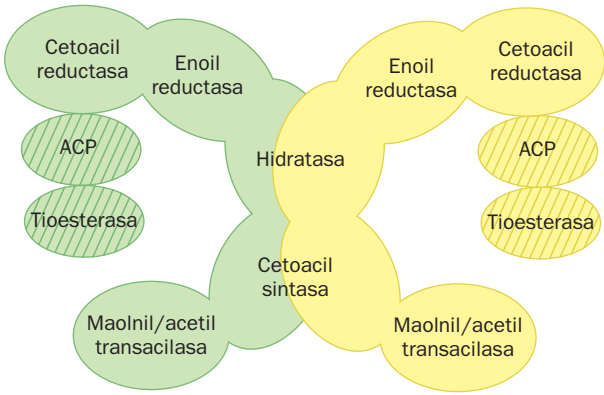


FIGURA 23-1 La biosíntesis del malonil-CoA por el acetil carboxilasa. El acetil carboxilasa es un complejo multienzimático que contiene dos enzimas, la biotina carboxilasa (E1) y la carboxil transferasa (E2) y la proteína portadora de biotina (BCP, *biotin carrier* protein). La biotina está covalentemente asociada a la BCP. La reacción ocurre en dos pasos. En el paso 1, catalizada por la E1, la biotina se carboxila en tanto acepta al grupo COO^- de HCO_3^- y se utiliza el ATP. En el paso 2, catalizada por E2, el COO^- se cambia a acetil-CoA formando malonil-CoA.



Secuencia de dominios enzimáticos en la estructura primaria del monómero del ácido graso sintasa



Homodímero del ácido graso sintasa

FIGURA 23-2 Complejo multienzimático del ácido graso sintasa. El complejo es un dímero de dos monómeros polipeptídicos idénticos en los que seis enzimas y la proteína transportadora de acilo (ACP) están unidas en la estructura primaria en la secuencia que se muestra. La cristalografía de rayos X de la estructura tridimensional ha demostrado que los dos monómeros en el complejo están dispuestos en forma de X.

quier otra ruta metabólica. Sus posibles destinos son la esterificación en acilgliceroles, la elongación de la cadena, la desaturación o la esterificación en éster de colesterilo. En la glándula mamaria, existe una tioesterasa específica separada para los residuos de acilo de C_8, C_{10} o C_{12}, que se encuentran posteriormente en los lípidos de la leche.

La ecuación para la síntesis general de palmitato de acetil-CoA y malonil-CoA es

$$CH_3\,CO{-}S{-}CoA + 7HOOCCHCO{-}S{-}CoA + 14NADPH + 14H^+ \rightarrow CH_3(CH_2)_{14}\,COOH + 7CO_2 + 6H_2O + 8CoA{-}SH + 14NADP^+$$

El acetil-CoA utilizado como cebador forma átomos de carbono 15 y 16 de palmitato. La adición de todas las unidades C_2 subsiguientes es a través del malonil-CoA. El propionil-CoA en lugar de acetil-CoA se utiliza como cebador para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga con un número impar de átomos de carbono, que se encuentran particularmente en la grasa y la leche de los rumiantes.

La principal fuente de NADPH para la lipogénesis es la vía de la pentosa fosfato

El NADPH participa como donador de equivalentes reductores en la reducción de los derivados del acil 3-cetoacil y acil 2,3-insaturado (figura 23-3, reacciones 3 y 5). Las reacciones oxidativas de la ruta de la pentosa fosfato (véase capítulo 20) son la fuente principal del hidrógeno requerido para la síntesis de ácidos grasos. Significativamente, los tejidos que se especializan en la lipogénesis activa, es decir, el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria lactante, también poseen una vía activa de pentosa fosfato. Además, ambas vías metabólicas se encuentran en el citosol de la célula, por lo que no hay membranas o barreras de permeabilidad contra la transferencia de NADPH. Otras fuentes de NADPH incluyen la reacción que convierte al malato en piruvato catalizado por la **NADP malato deshidrogenasa (enzima málica)** (**figura 23-4**) y la reacción de deshidrogenasa de **isocitrato extramitocondrial** (una fuente importante en los rumiantes).

El acetil-CoA es la clave en la formación de los ácidos grasos

El acetil-CoA se forma de la glucosa a través de la oxidación del piruvato en la matriz de las mitocondrias (véase capítulo 17). Sin embargo, como no se difunde fácilmente a través de las membranas mitocondriales, su transporte al citosol, el sitio principal de la síntesis de los ácidos grasos, requiere un mecanismo especial que involucre al **citrato**. Después de la condensación de acetil-CoA con oxaloacetato en el ciclo del ácido cítrico dentro de las mitocondrias, el citrato producido puede translocarse al compartimento extramitocondrial a través del transportador de tricarboxilato, donde en presencia de CoA y ATP, se somete a la escisión de acetil-CoA y oxaloacetato por **ATP-citrato liasa**, que aumenta la actividad en un estado de buena alimentación. La acetil-CoA está entonces disponible para la formación de malonil-CoA y la síntesis de ácidos grasos (figuras 23-1 y 23-3), y el oxaloacetato puede formar malato a través de malato deshidrogenasa NADH enlazada, seguida de la generación de NADPH y piruvato a través de la enzima málica. El NADPH está disponible para la lipogénesis y el piruvato se puede utilizar para regenerar la acetil-CoA después del transporte a la mitocondria (figura 23-4). Esta vía es un medio de transferir equivalentes reductores de NADH extramitocondrial a NADP. Alternativamente, el malato puede transportarse a la mitocondria, donde es capaz de reformar el oxaloacetato. Tenga en cuenta que el transportador de citrato (tricarboxilato) en la membrana mitocondrial requiere que el malato se intercambie con el citrato (véase figura

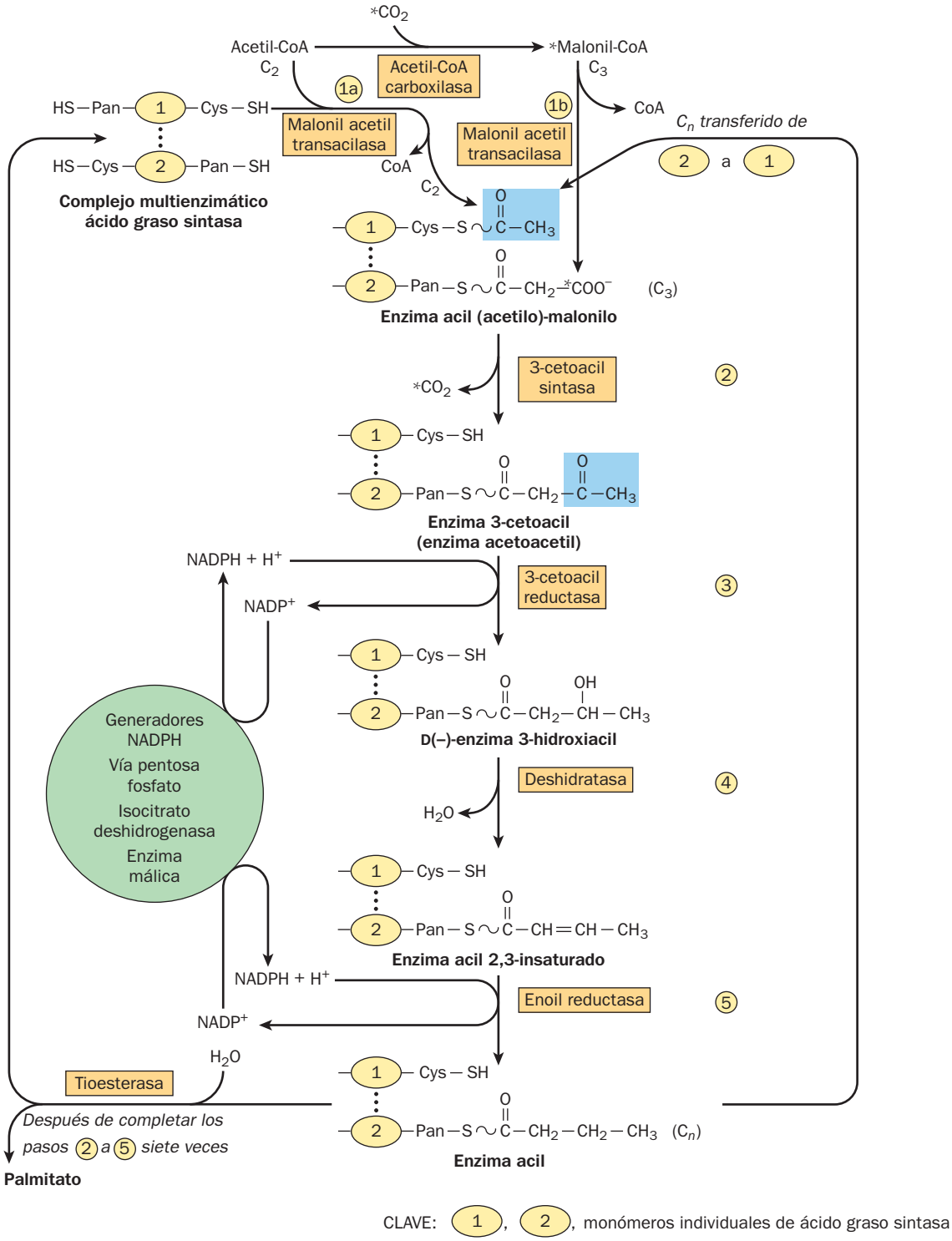


FIGURA 23-3 **Biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga.** Después del paso inicial de cebado en el que el acetil-CoA se une a un grupo cisteína-SH en la enzima ácido graso sintasa (reacción 1a) en cada ciclo, la adición de un residuo de malonil causa la cadena de acil para crecer en dos átomos de carbono. (Cis: residuo de cisteína; Pan: 4'-fosfopanteteína.) Los bloques resaltados en azul contienen inicialmente una unidad C_2 derivada de acetil-CoA (como se ilustra) y posteriormente se formó la unidad Cn en la reacción 5.

* Muestra que el carbono en el CO_2 inicialmente incorporado en malonil-CoA se libera como CO_2 en la reacción 2.

13-10). Existe poca ATP-citrato liasa o enzima málica en los rumiantes, probablemente porque en estas especies el acetato (derivado de la digestión de carbohidratos en la rumia y activado a acetil-CoA extramitocondrialmente) es la principal fuente de acetil-CoA.

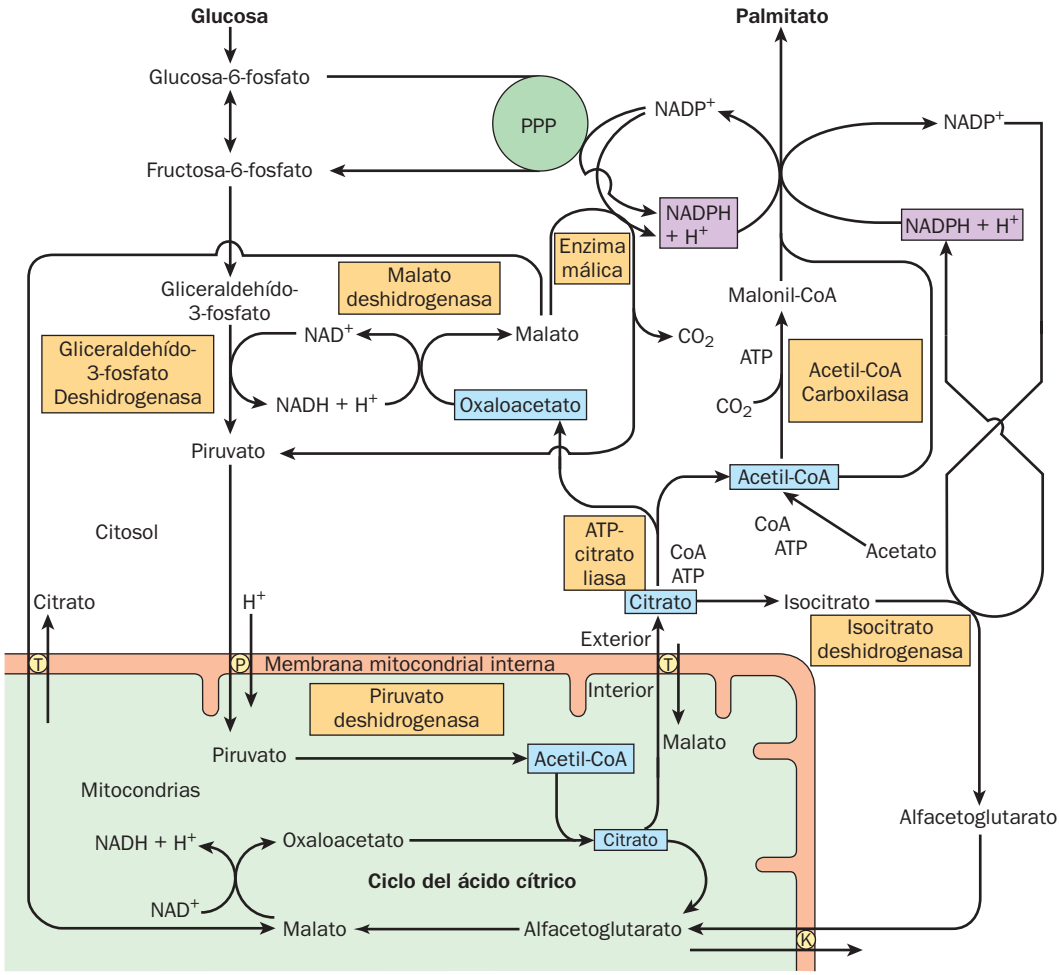


FIGURA 23-4 **La provisión de acetil-CoA y NADPH para la lipogénesis.** [K (α-*ketuglutarate transporter*): transportador de alfacetoglutarato; P (*pyruvate transporter*): transportador de piruvato; PPP (*pentose phosphate pathway*): vía a través de pentosa fosfato; T (*tricarboxylate transporter*): transportador de tricarboxilato.]

La elongación de las cadenas de ácidos grasos se produce en el retículo endoplásmico

Esta vía (el **"sistema microsomal"**) alarga los acil-CoA grasos saturados e insaturados (de C_{10} hacia arriba) por dos carbonos, usando malonil-CoA como el donador de acetil y NADPH como agente reductor, y es catalizado por el sistema de **elongaciones de ácido graso** microsomal de enzimas (**figura 23-5**). El alargamiento de estearil-CoA en el cerebro aumenta rápidamente durante la mielinización con el fin de proporcionar ácidos grasos C_{22} y C_{24} para los esfingolípidos.

EL ESTADO NUTRICIONAL REGULA LA LIPOGÉNESIS

El exceso de carbohidratos se almacena como grasa en muchos animales en previsión de periodos de deficiencia calórica, como la inanición, la hibernación, etc., y para proporcionar energía en animales para el uso entre comidas, incluidos los humanos, que toman sus alimentos a intervalos espaciados. La lipogénesis convierte la glucosa excedente y los productos intermedios, como el piruvato, el lactato y el acetil-CoA en grasa, lo que ayuda a la fase anabólica de este ciclo de alimentación. El estado nutricional del organismo es el principal factor que regula la tasa de lipogénesis. Por tanto, la tasa es alta en los animales bien alimentados cuya dieta contiene una alta proporción de carbohidratos. Está deprimido por la ingesta calórica restringida, la dieta alta en grasas o la deficiencia de insulina, como en la diabetes mellitus. Estas últimas condiciones se asocian con mayores concentraciones de ácidos grasos libres en plasma, y se ha demostrado una relación inversa entre la lipogénesis hepática y la concentración de ácidos grasos libres en suero. La lipogénesis aumenta cuando se administra sacarosa en lugar de glucosa porque la fructosa evita el punto de control de la fosfofructoquinasa en la glucólisis e inunda la vía lipogénica (véase figura 20-5).

MECANISMOS A CORTO Y LARGO PLAZOS QUE REGULAN LA LIPOGÉNESIS

La síntesis de ácidos grasos de cadena larga está controlada a corto plazo por la modificación alostérica y covalente de enzimas y, a

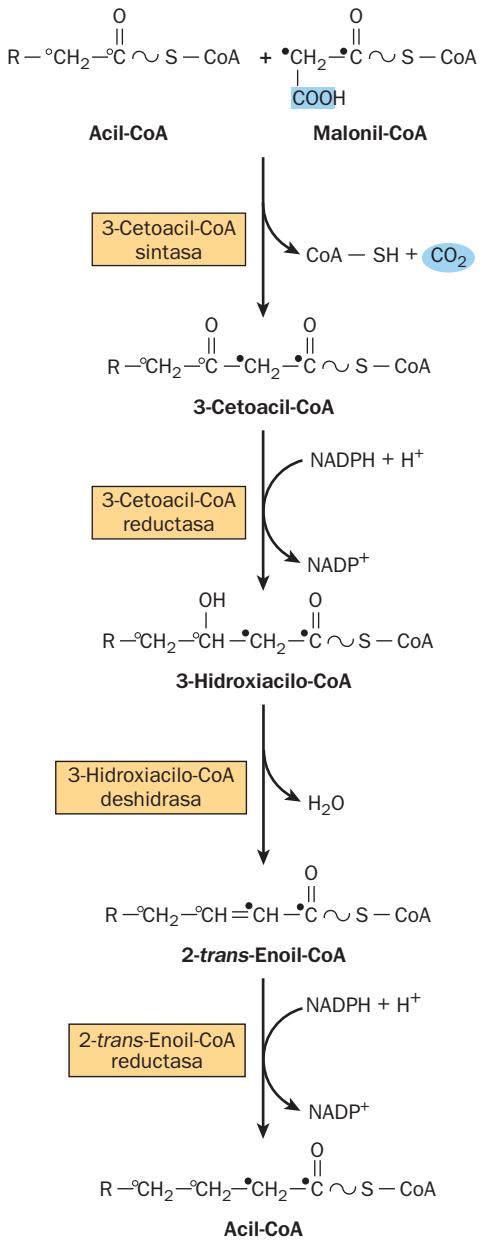


FIGURA 23-5 **Sistema de elongasa microsomal para la elongación de la cadena de ácido graso.** Las reductasas también pueden usar NADH, pero se prefiere NADPH.

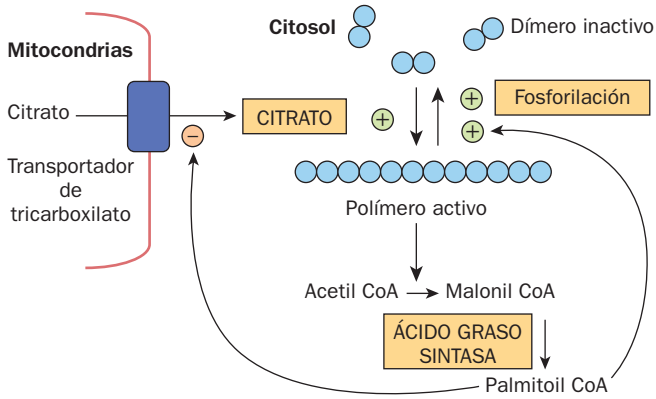


FIGURA 23-6 **Regulación de la acetil-CoA carboxilasa.** La acetil-CoA carboxilasa se activa con el citrato, que promueve la conversión de la enzima de un dímero inactivo a una forma polimérica activa. La inactivación se promueve por fosforilación de la enzima y por moléculas de acil-CoA de cadena larga tales como el palmitoil-CoA. Además, la acil-CoA inhibe el transportador de tricarboxilato, que transporta el citrato de las mitocondrias al citosol, disminuyendo así la concentración de citrato en el citosol y favoreciendo la inactivación de la enzima.

largo plazo, por cambios en la expresión génica que gobiernan las tasas de síntesis de enzimas.

La acetil-CoA carboxilasa es la enzima más importante en la regulación de la lipogénesis

La acetil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica y se activa con el **citrato**, que aumenta la concentración en estado de buena alimentación y es un indicador de un suministro abundante de acetil-CoA. El citrato promueve la conversión de la enzima de un dímero inactivo (dos subunidades del complejo de la enzima) a una forma polimérica activa, con una masa molecular de varios millones. La inactivación es promovida por la fosforilación de la enzima y por las moléculas de acil-CoA de cadena larga, un ejemplo de inhibición por retroalimentación negativa por un producto de una reacción (**figura 23-6**). Por tanto, si el acil-CoA se acumula porque no se esterifica lo suficientemente rápido o debido a un aumento de la lipólisis o un influjo de ácidos grasos libres en el tejido, automáticamente reducirá la síntesis de nuevos ácidos grasos.

El acil-CoA también inhibe el **transportador de tricarboxilato** mitocondrial, lo que impide la activación de la enzima por la salida del citrato de la mitocondria hacia el citosol (figura 23-6). La acetil-CoA carboxilasa también está regulada por hormonas como el **glucagón**, la **adrenalina** y los cambios de **insulina** en su estado de fosforilación (detalles en **figura 23-7**).

La piruvato deshidrogenasa también está regulada por el acil-CoA

El acil-CoA causa una inhibición de la piruvato deshidrogenasa al inhibir el transportador de intercambio ATP-ADP de la membrana mitocondrial interna, lo que conduce a un aumento de las relaciones intramitocondriales (ATP)/(ADP) y por tanto a la conversión de piruvato deshidrogenasa activa a inactiva (véase figura 17-6), regulando así la disponibilidad de acetil-CoA para la lipogénesis. Además, la oxidación de acil-CoA debido a niveles aumentados de ácidos grasos libres puede aumentar las proporciones de (acetil-CoA)/(CoA) y (NADH)/(NAD^+) en las mitocondrias, inhibiendo la piruvato deshidrogenasa.

La insulina también regula la lipogénesis a través de otros mecanismos

La **insulina** estimula la lipogénesis a través de otros mecanismos y también incrementa la actividad de la acetil-CoA carboxilasa. Aumenta el transporte de glucosa a la célula (p. ej., en el tejido adiposo), aumentando la disponibilidad tanto de piruvato para la síntes-

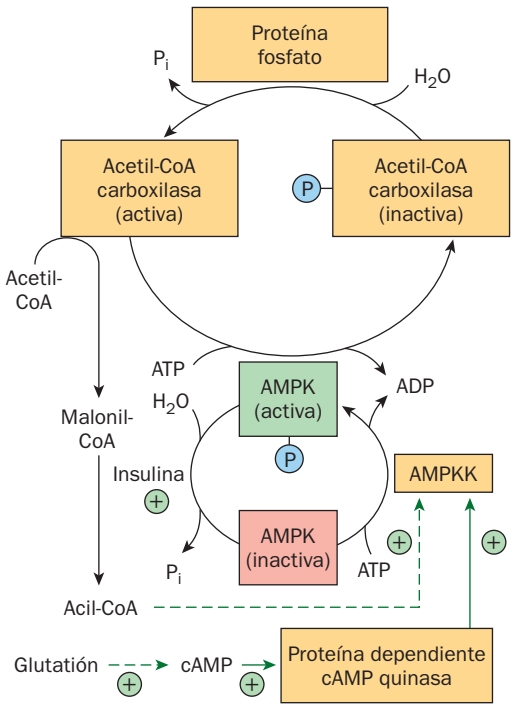


FIGURA 23-7 Regulación de la acetil-CoA carboxilasa por fosforilación/desfosforilación. La enzima se inactiva mediante la fosforilación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK, *activated protein kinase*), que a su vez se fosforila y activa mediante la proteína quinasa quinasa activada por AMP (AMPKK, *activated protein kinase kinase). El glucagón y la adrenalina aumentan el cAMP y, por tanto, activan esta última enzima a través de la proteína quinasa dependiente de cAMP. También se cree que la enzima quinasa quinasa está activada por acil-CoA. La insulina activa la acetil-CoA carboxilasa a través de la desfosforilación de AMPK.*

sis de ácidos grasos como de glicerol-3-fosfato para la síntesis de triacilglicerol a través de la esterificación de los ácidos grasos recién formados (véase figura 24-2), y también convierte la forma inactiva de la piruvato deshidrogenasa a la forma activa en el tejido adiposo, pero no en el hígado. La insulina también, por su capacidad de deprimir el nivel de cAMP intracelular, **inhibe la lipólisis** en el tejido adiposo, reduciendo la concentración de ácidos grasos libres de plasma y, por tanto, al acil-CoA de cadena larga, que son inhibidores de la lipogénesis.

El complejo ácido graso sintasa y la acetil-CoA carboxilasa son enzimas adaptativas

Estas enzimas se adaptan a las necesidades fisiológicas del cuerpo a través de cambios en la expresión genética que conducen a aumentos en la cantidad total de proteína enzimática presente en el estado de alimentación y disminuye durante la ingesta de una dieta alta en grasas y en condiciones como inanición y diabetes mellitus. La **insulina** juega un papel importante, promoviendo la expresión génica y la inducción de la biosíntesis de la enzima, y el **glucagón** (a través de cAMP) antagoniza este efecto. El consumo de grasas que contienen ácidos grasos poliinsaturados regula de forma coordinada la inhibición de la expresión de las enzimas clave de la glucólisis y la lipogénesis. Estos mecanismos para la regulación a largo plazo de la lipogénesis tardan varios días en manifestarse completamente y aumentan el efecto directo e inmediato de los ácidos grasos libres y las hormonas como la insulina y el glucagón.

ALGUNOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS NO PUEDEN SER SINTETIZADOS POR MAMÍFEROS Y SON NUTRICIONALMENTE ESENCIALES

Ciertos ácidos grasos insaturados de cadena larga de importancia metabólica en mamíferos se muestran en la **figura 23-8**. Otros ácidos grasos polienoicos C_{20}, C_{22} y C_{24} pueden derivarse de ácidos oleicos, linoleico y alfalinolénico por elongación de la cadena. Los ácidos palmitoleico y oleico no son esenciales en la dieta porque los tejidos pueden introducir un doble enlace en la posición Δ^9 de un ácido graso saturado. Los **ácidos linoleico** y **alfalinolénico** son los únicos ácidos grasos que se sabe que son esenciales para la nutrición completa de muchas especies de animales, incluidos los humanos, y se denominan **ácidos grasos nutricionalmente esenciales**.

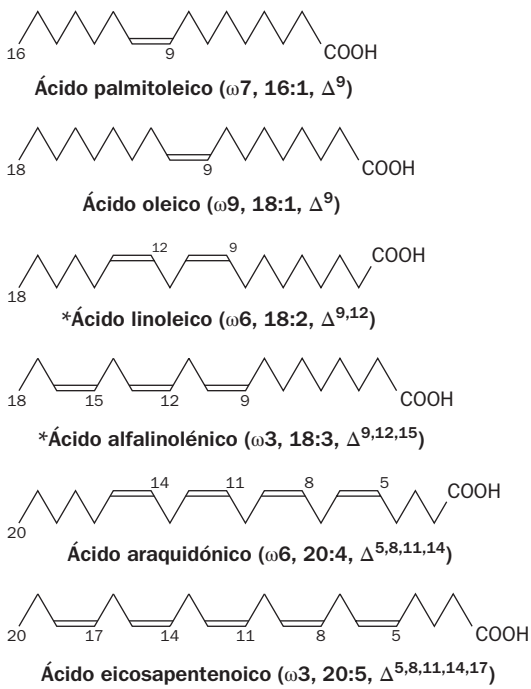


FIGURA 23-8 Estructura de algunos ácidos grasos insaturados. Aunque los átomos de carbono en las moléculas están numerados convencionalmente, es decir, numerados del terminal carboxilo, los números ω (p. ej., ω7 en ácido palmitoleico) se calculan a partir del extremo inverso (el terminal metilo) de las moléculas. La información entre paréntesis muestra, por ejemplo, que el ácido alfalinolénico contiene dobles enlaces comenzando en el tercer carbono del terminal metilo, tiene 18 carbonos y 3 dobles enlaces, y posee estos dobles enlaces en el 9o., 12o. y 15o. carbono del terminal carboxilo. *Ácidos grasos nutricionalmente esenciales en humanos.

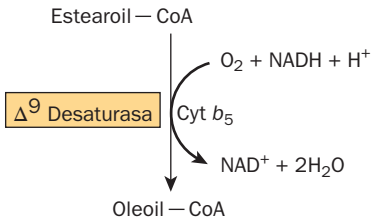


FIGURA 23-9 **Microsomal Δ^9 desaturasa.**

En los humanos y en la mayoría de los otros mamíferos, el **ácido araquidónico** puede formarse a partir del ácido linoleico. Los enlaces dobles se pueden introducir en las posiciones Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 (véase capítulo 21) en la mayoría de los animales, pero nunca más allá de la Δ^9 posición. Por el contrario, las plantas son capaces de sintetizar los ácidos grasos nutricionalmente esenciales mediante la introducción de dobles enlaces en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15}.

LOS ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS SON SINTETIZADOS POR EL SISTEMA DE Δ^9 DESATURASA

Varios tejidos, incluido el hígado, se consideran responsables de la formación de ácidos grasos monoinsaturados no esenciales a partir de ácidos grasos saturados. El primer doble enlace introducido en un ácido graso saturado casi siempre está en la posición Δ^9. Un sistema enzimático –Δ^9 **desaturasa (figura 23-9)** en el retículo endoplásmico cataliza la conversión de palmitoil-CoA o estearoil-CoA en palmitoleoil-CoA u oleoil-CoA, respectivamente. El oxígeno y NADH o NADPH son necesarios para la reacción. Las enzimas parecen ser similares a un sistema monooxigenasa que involucra al citocromo b_5 (véase capítulo 12).

LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS IMPLICA SISTEMAS DE ENZIMA DESATURASA Y ELONGASA

Los dobles enlaces adicionales introducidos en los ácidos grasos monoinsaturados existentes se separan siempre entre sí por un grupo metileno (interrumpido por metileno) excepto en las bacterias. Dado que los animales tienen una Δ^9 desaturasa, pueden sintetizar completamente la familia de ácidos grasos insaturados ω9 (ácido oleico) mediante una combinación de elongación y desaturación de la cadena (figuras 23-9 y **23-10**) después de la formación de ácidos grasos saturados por la caminos descritos en este capítulo. Sin embargo, como se indicó con anterioridad, se requieren ácidos linoleico (ω6) o alfalinolénico (ω3) para la síntesis de los otros miembros de las familias ω6 o ω3 (rutas mostradas en figura 23-10) y deben suministrarse en la dieta. El ácido linoleico se convierte en ácido araquidónico (20:4 ω6) a través del **ácido γ-linolénico (18:3 ω6)**. El requisito nutricional para el araquidonato se puede

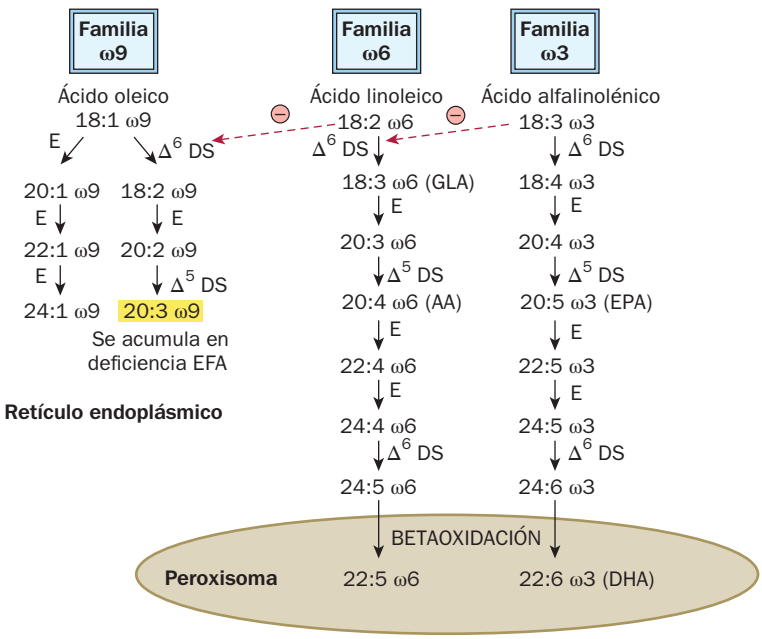


FIGURA 23-10 **Biosíntesis de las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados.** En los animales, las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados se sintetizan en el retículo endoplásmico a partir de los ácidos oleico, linoleico y betalinolénico, respectivamente, mediante una serie de reacciones de elongación y desaturación. La producción de 22:5 ω6 (ácido osbond) o 22:6 ω3 (ácido docosahexanoico [DHA, *docosahexanoic acid*]), sin embargo, requiere un ciclo de betaoxidación, que tiene lugar dentro de los peroxisomas después de la formación de 24:5 ω6 o 24:6 ω3. [AA (*arachidonic acid*): ácido araquidónico; E (*elongase*): elongasa, DS (*desaturase*): desaturasa; EFA (*essential fatty acids*): ácidos grasos esenciales; EPA (*eicosapentaenoic acid*): ácido eicosapentaenoico; GLA (γ-*linolenic acid*): ácido γ-linolénico; ⊖: inhibición).

prescindir si hay un linoleato adecuado en la dieta. Los gatos, sin embargo, no pueden llevar a cabo esta conversión debido a la ausencia de Δ^6 desaturasa y deben obtener araquidonato en su dieta. La desaturación y el sistema de elongación de la cadena disminuyen enormemente en estado de inanición, en respuesta a la administración de glucagón y adrenalina, y en ausencia de insulina como en la diabetes mellitus tipo 1.

LOS SÍNTOMAS DE DEFICIENCIAS QUE OCURREN CUANDO LOS ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES (EFA) ESTÁN AUSENTES DE LA DIETA

Las ratas alimentadas con una dieta no lípida purificada que contiene vitaminas A y D presentan una tasa de crecimiento reducida y una deficiencia reproductiva que se puede curar mediante la adición de **ácidos linoleico**, **alfalinolénico** y **araquidónico** a la dieta. Estos ácidos grasos se encuentran en altas concentraciones en aceites vegetales (véase el cuadro 21-2) y en pequeñas cantidades en cadáveres de animales. Los ácidos grasos esenciales son necesarios para la formación de prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas (véase a continuación), y también tienen otras funciones que están menos definidas. Se encuentran en los lípidos estructurales de la célula, a menudo en la posición 2 de los fosfolípidos, y están relacionados con la integridad estructural de la membrana mitocondrial.

El ácido araquidónico está presente en las membranas y representa del 5 al 15% de los ácidos grasos en los fosfolípidos. El ácido docosahexaenoico (DHA; ω3, 22: 6), que se sintetiza en una medida limitada a partir del ácido alfalinolénico o se obtiene directamente de los aceites de pescado, está presente en altas concentraciones en la retina, la corteza cerebral, los testículos y los espermatozoides. El DHA es particularmente necesario para el desarrollo del cerebro y la retina y se suministra a través de la placenta y la leche. Se informa que los pacientes con **retinitis pigmentosa** tienen niveles bajos de DHA en la sangre. En la **deficiencia de ácidos grasos esenciales**, los ácidos polienoicos no esenciales de la familia ω9, particularmente los ácidos $\Delta^{5,8,11}$-eicosatrienoico (ω9 20: 3) (figura 23-10), reemplazan a los ácidos grasos esenciales en los fosfolípidos, otros lípidos complejos y membranas. La relación trieno/tetraeno en los lípidos plasmáticos se puede usar para diagnosticar la extensión de la deficiencia de los ácidos grasos esenciales.

LOS EICOSANOIDES ESTÁN FORMADOS A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS C_{20}

El araquidonato y algunos otros ácidos grasos C_{20} poliinsaturados dan lugar a los **eicosanoides**, compuestos fisiológica y farmacológicamente activos conocidos como **prostaglandinas** (**PG,** *prostaglandins*), **tromboxanos** (**TX,** *thromboxanes*), **leucotrienos** (**LT,** *leukotrienes*) y las **lipoxinas** (**LX,** *lipoxins*) (véase capítulo 21). Fisiológicamente, se considera que actúan como hormonas locales que funcionan a través de receptores de proteínas ligados a G, lo que provoca su efecto bioquímico.

Existen tres grupos de eicosanoides que se sintetizan a partir de ácidos eicosanoicos de C_{20} derivados de los ácidos grasos esenciales **linoleato** y **alfalinolenato**, o directamente desde araquidonato y eicosapentaenoato en la dieta (**figura 23-11**). El araquidonato, que puede obtenerse de la dieta, pero por lo general se deriva de la posición 2 de los fosfolípidos en la membrana plasmática por la acción de la fosfolipasa A_2 (figura 24-5), es el sustrato para la síntesis de la PG_2, TX_2 series (**prostanoides**) por la **vía de la ciclooxigenasa**, o las series LT_4 y LX_4 por la **vía de la lipoxigenasa**, compitiendo las dos vías por el sustrato de araquidonato (figura 23-11).

LA VÍA DE LA CICLOOXIGENASA ES RESPONSABLE DE LA SÍNTESIS DE PROSTANOIDES

Los prostanoides (véase capítulo 21) se sintetizan por la vía resumida en la **figura 23-12**. En la primera reacción, catalizada por la **ciclooxigenasa** (**COX**, *cyclooxigenase*) (también llamada **prostaglandina H sintasa**), una enzima que tiene dos actividades, una **ciclooxigenasa** y **peroxidasa**, en la que se consumen dos moléculas de O_2. La COX está presente como dos isoenzimas, **COX-1** y **COX-2**. El producto, un endoperóxido (PGH, *endoperoxide*), se convierte en prostaglandinas D y E, así como en un tromboxano (TXA_2, *thromboxane*) y prostaciclina (PGI_2, *prostacyclin*). Cada tipo de célula produce sólo un tipo de prostanoide.

Los prostanoides son sustancias potentes y biológicamente activas

Los **tromboxanos** se sintetizan en las plaquetas y con la liberación provocan vasoconstricción y agregación plaquetaria. Su síntesis es específicamente inhibida por bajas dosis de aspirina. Las **prostaciclinas** (**PGI_2**) son producidas por las paredes de los vasos sanguíneos y son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria. Por tanto, los tromboxanos y las prostaciclinas son antagónicos. Los PG_3 y TX_3, formados a partir del ácido eicosapentaenoico (EPA), inhiben la liberación de araquidonato a partir de fosfolípidos y la formación de PG_2 y TX_2. El PGI_3 es un antiagregante de plaquetas potente como el PGI_2, pero el TXA_3 es un agregador más débil que el TXA_2, cambiando el equilibrio de actividad y favoreciendo tiempos de coagulación más largos. Tan sólo 1 ng/mL de prostaglandinas plasmáticas causa la contracción del músculo liso de los animales.

Los ácidos grasos esenciales no ejercen todos sus efectos fisiológicos a través de la síntesis de prostaglandinas

El papel de los ácidos grasos esenciales en la formación de la membrana no está relacionado con la formación de prostaglandinas. Estas no alivian los síntomas de la deficiencia de ácidos grasos esenciales, la cual no es causada por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

La ciclooxigenasa es una "enzima suicida"

La "desactivación" de la actividad de la prostaglandina se logra en parte por una notable propiedad de la ciclooxigenasa: la de la destrucción autocatalizada; es decir, es una **"enzima suicida"**. Además, la inactivación de las prostaglandinas por la **15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa** es rápida. El bloqueo de la acción de esta

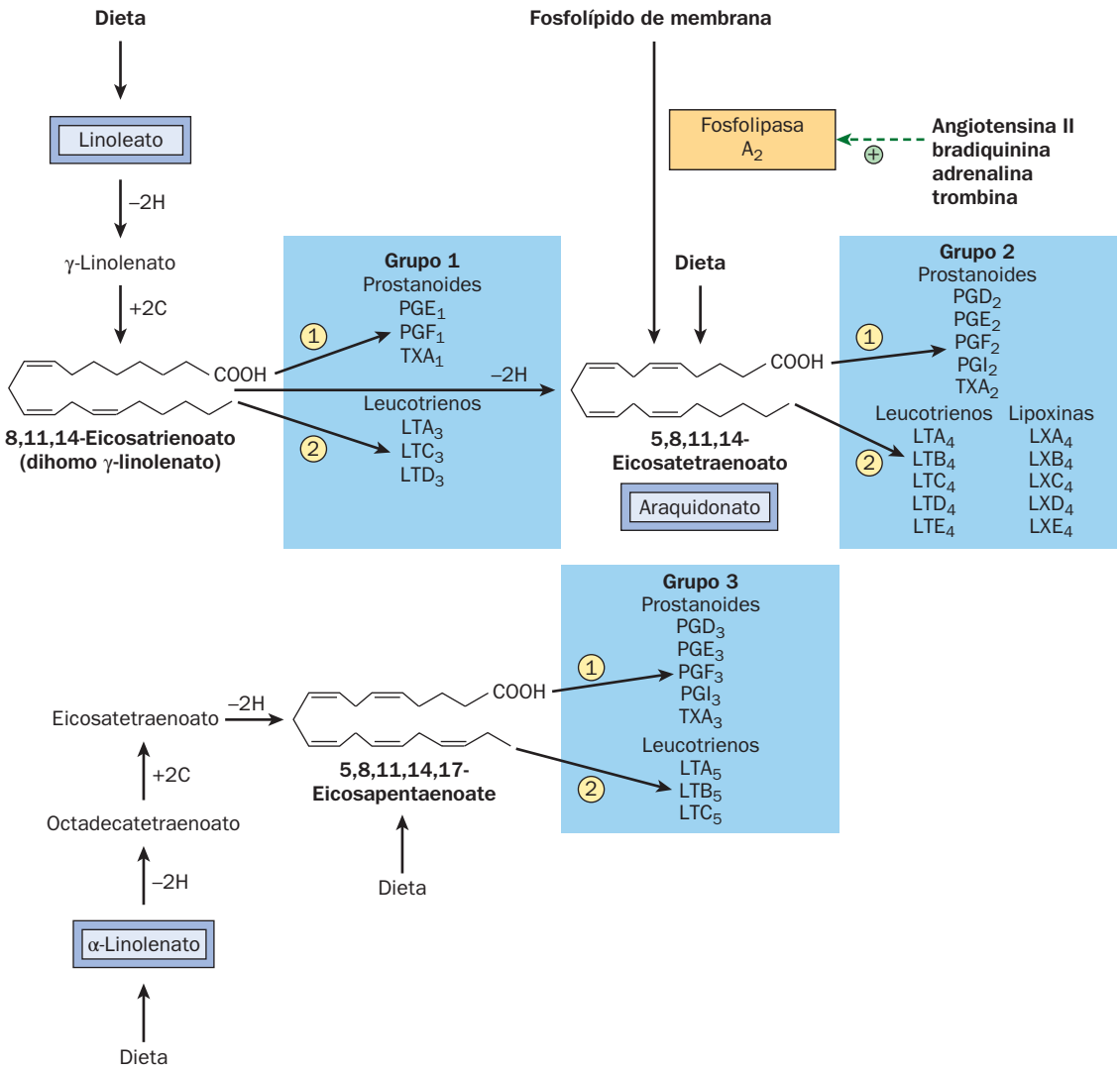


FIGURA 23-11 **Los tres grupos de eicosanoides y sus orígenes biosintéticos.** (1: vía de la ciclooxigenasa; 2: vía de la lipoxigenasa; LT: leucotrieno; LX: lipoxina; PG: prostaglandina; PGI: prostaciclina; TX: tromboxano.) El subíndice denota el número total de enlaces dobles en la molécula y la serie a la que pertenece el compuesto.

enzima con sulfasalazina o indometacina puede prolongar la vida media de las prostaglandinas en el cuerpo.

LOS LEUCOTRIENOS Y LAS LIPOXINAS ESTÁN FORMADOS POR LA VÍA LIPOXIGENASA

Los **leucotrienos** son una familia de trienos conjugados formados a partir de ácidos eicosanoicos en los leucocitos, células de mastocitoma, plaquetas y macrófagos por la **vía de la lipoxigenasa** en respuesta a estímulos tanto inmunológicos como no inmunológicos. Tres lipoxigenasas (dioxigenasas) diferentes insertan oxígeno en las posiciones 5, 12 y 15 del ácido araquidónico, dando lugar a hidroperóxidos (HPETE). Sólo la **5-lipoxigenasa** forma leucotrienos (detalles en **figura 23-13**). Las **lipoxinas** son una familia de tetraenos conjugados que también surgen en los leucocitos. Se forman por la acción combinada de más de una lipoxigenasa (figura 23-13).

ASPECTOS CLÍNICOS

Los síntomas de la deficiencia de ácidos grasos esenciales en los seres humanos incluyen lesiones cutáneas y el deterioro del transporte de lípidos

En adultos que subsisten con dietas ordinarias, no se han reportado signos de deficiencias de ácidos grasos esenciales. Sin embargo, los lactantes que reciben dietas bajas en grasa y los pacientes mantenidos durante largos periodos exclusivamente por nutrición intravenosa baja en ácidos grasos esenciales muestran síntomas de deficiencia que pueden prevenirse mediante una ingesta de ácidos grasos esenciales de 1 a 2% del requerimiento calórico total.

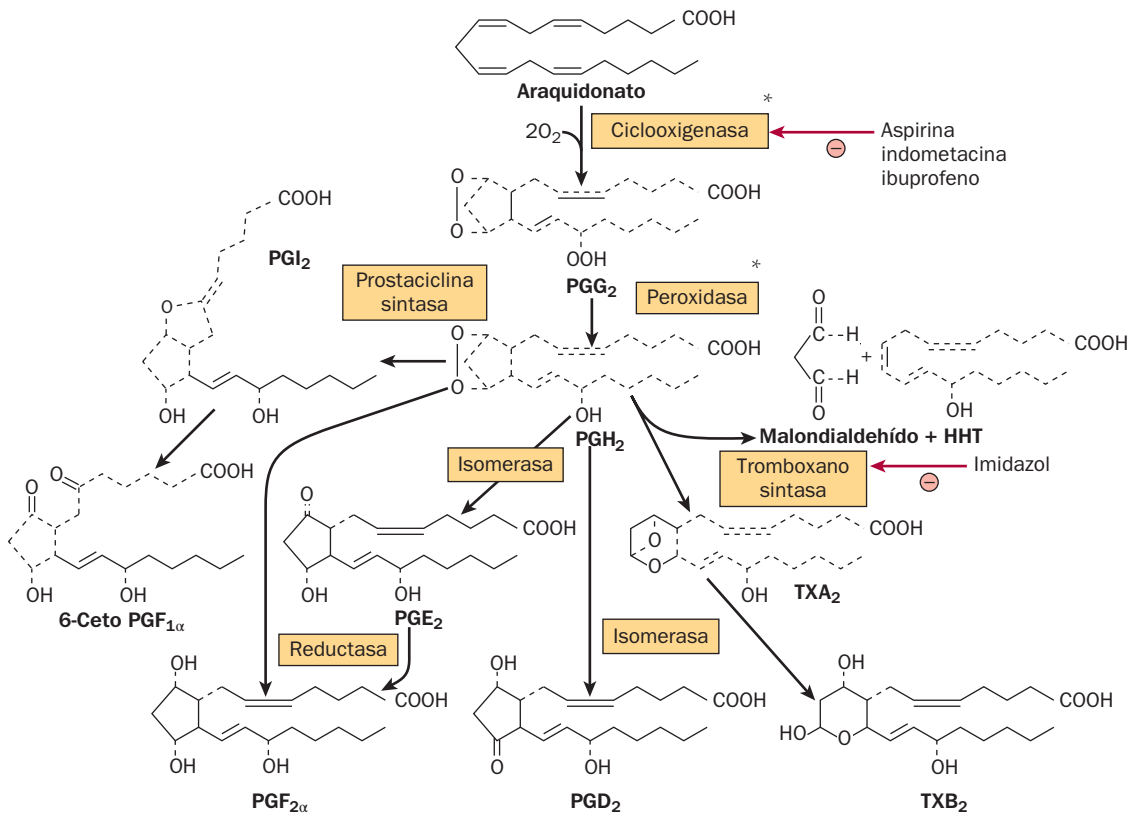


FIGURA 23-12 Conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2. [HHT (*hydroxyheptadecatrienoate*): hidroxiheptadecatrienoato; PG, prostaglandina, PGI: prostaciclina; TX: tromboxano.) (*Ambas actividades destacadas se atribuyen a la enzima ciclooxigenasa [prostaglandina H] sintasa. Se producen conversiones similares en prostaglandinas y tromboxanos de las series 1 y 3.)

Se produce un metabolismo anormal de los ácidos grasos esenciales en varias enfermedades

El metabolismo anormal de ácidos grasos esenciales, que puede estar relacionado con insuficiencia alimentaria, se ha observado en fibrosis quística, acrodermatitis enteropática, síndrome hepatorrenal, síndrome de Sjögren-Larsson, degeneración neuronal multisistémica, enfermedad de Crohn, cirrosis y alcoholismo, y en el síndrome de Reye. Se han encontrado niveles elevados de ácidos polienoicos de cadena muy larga en los cerebros de pacientes con síndrome de Zellweger (véase capítulo 22). Las dietas con una proporción alta de P:S (poliinsaturados:ácidos grasos saturados) reducen los niveles de colesterol en suero y se consideran beneficiosas en términos del riesgo de desarrollo de enfermedad coronaria.

Los ácidos grasos *trans* están implicados en diversos trastornos

Pequeñas cantidades de ácidos grasos transinsaturados se encuentran en la grasa de los rumiantes (p. ej., la grasa de la mantequilla tiene 2-7%), donde surgen de la acción de microorganismos en el rumen, pero la fuente principal en la dieta humana es de aceites vegetales parcialmente hidrogenados (p. ej., la margarina) (véase capítulo 21). Los ácidos grasos *trans* compiten con los ácidos grasos esenciales y pueden exacerbar la deficiencia esencial de ácidos grasos. Además, son estructuralmente similares a los ácidos grasos saturados (véase capítulo 21) y tienen efectos comparables en la promoción de la hipercolesterolemia y la aterosclerosis (capítulo 26).

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos inhiben la COX

La aspirina es un medicamento antiinflamatorio no esteroideo (NSAID) que inhibe la COX-1 y la COX-2. Otros NSAID, incluyendo la **indometacina** y el **ibuprofeno** que por lo general inhiben las ciclooxigenasas, compiten con el araquidonato. Ya que la inhibición de la COX-1 causa la irritación estomacal a menudo asociada con la toma de NSAID, se han realizado intentos para desarrollar medicamentos que inhiban selectivamente la COX-2 (**coxibs**). Por desgracia, sin embargo, el éxito de este enfoque ha sido limitado y algunos coxibs han sido retirados o suspendidos del mercado debido a efectos secundarios indeseables y problemas de seguridad. La transcripción de COX-2, pero no de COX-1, está completamente inhibida por los **corticosteroides antiinflamatorios**.

Los prostanoides pueden usarse terapéuticamente

Los posibles usos terapéuticos de los prostanoides incluyen la prevención de la concepción, la inducción del trabajo de parto a término, la interrupción del embarazo, la prevención o alivio de las úlceras gástricas, el control de la inflamación y de la presión arterial y el alivio del asma y la congestión nasal. Además, la PGD_2 es

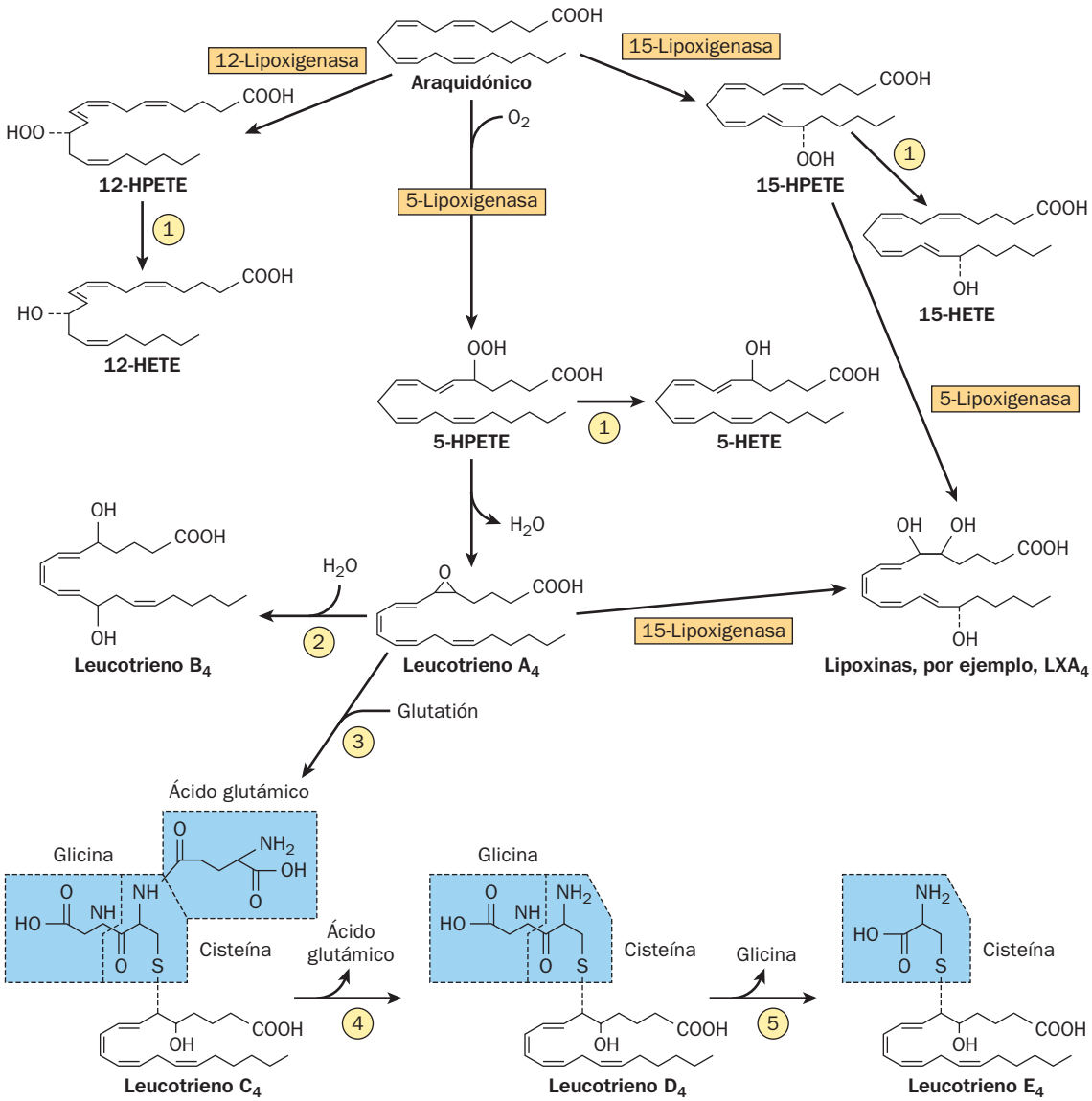


FIGURA 23-13 **Conversión del ácido araquidónico en leucotrienos y lipoxinas de la serie 4 a través de la vía de la lipoxigenasa.** Algunas conversiones similares ocurren en las series 3 y 5 de los leucotrienos. [①: peroxidasa; ②: leucotrieno A_4 epóxido hidrolasa; ③: glutatión S-transferasa; ④: γ-glutamiltranspeptidasa; ⑤: cisteinil-glicina dipeptidasa; HETE (*hydroxyeicosatetraenoate*): hidroxieicosatetraenoato; HPETE (*hydroperoxyeicosatetraenoate*): hidroperoxieicosatetraenoato.]

una potente sustancia promotora del sueño. Las prostaglandinas aumentan el AMPc en plaquetas, tiroides, cuerpo lúteo, hueso fetal, adenohipófisis y pulmón, pero reducen el AMPc en las células del túbulo renal y el tejido adiposo (véase capítulo 25).

Los leucotrienos y las lipoxinas son potentes reguladores de muchos procesos de enfermedad

La sustancia de reacción lenta de anafilaxia (**SRS-A**, *slow-reacting substance of anaphylaxis*) es una mezcla de leucotrienos C_4, D_4 y E_4. Esta mezcla de leucotrienos posee potentes propiedades contráctiles de la musculatura bronquial de las vías respiratorias. Estos leucotrienos junto con el **leucotrieno B_4** también causan permeabilidad vascular, atracción y activación de leucocitos y son reguladores importantes en muchas enfermedades que implican reacciones de hipersensibilidad inflamatoria, o inmediatas, tales como el asma. Los leucotrienos son vasoactivos y se ha encontrado 5-lipoxigenasa en las paredes arteriales. La evidencia respalda un papel antiinflamatorio de las lipoxinas en la función vasoactiva e inmunorreguladora, por ejemplo, como compuestos contrarreguladores (**chalonas**) de la respuesta inmune.

RESUMEN

- La síntesis de ácidos grasos de cadena larga (lipogénesis) se lleva a cabo mediante dos sistemas enzimáticos: la acetil-CoA carboxilasa y el ácido graso sintasa.
- La ruta convierte la acetil-CoA en palmitato y requiere NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y ácido pantoténico como cofactores.

- La acetil-CoA carboxilasa convierte la acetil-CoA en malonil-CoA, y luego la sintasa de ácido graso, un complejo multienzimático que consiste en dos cadenas polipeptídicas idénticas, cada una con seis actividades enzimáticas separadas y ACP, cataliza la formación de palmitato a partir de una acetil-CoA y siete moléculas de malonil-CoA.
- La lipogénesis está regulada en la etapa de acetil-CoA carboxilasa por modificadores alostéricos, fosforilación/desfosforilación e inducción y represión de la síntesis de enzimas. La enzima es activada alostéricamente por el citrato y desactivada por la acil-CoA de cadena larga. La desfosforilación (p. ej., por la insulina) promueve su actividad, mientras que la fosforilación (p. ej., por el glucagón o la adrenalina) la inhibe.
- La biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga insaturados se logra mediante las enzimas desaturasa y elongasa, que introducen dobles enlaces y alargan las cadenas de acilo existentes, respectivamente.
- Los animales superiores tienen Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 desaturasas, pero no pueden insertar nuevos enlaces dobles más allá de la posición 9 de los ácidos grasos. Por tanto, los ácidos grasos esenciales linoleico (ω6) y alfalinolénico (ω3) se deben obtener de la dieta.
- Los eicosanoides se derivan de los ácidos grasos C_{20} (eicosanoicos) sintetizados a partir de los ácidos grasos esenciales y constituyen importantes grupos de compuestos fisiológicos y farmacológicamente activos, que incluyen prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas.

REFERENCIAS

Eljamil AS. *Lipid Biochemistry: For Medical Sciences*. iUniverse; 2015.

Smith WL, Murphy RC. The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6th ed. Academic Press; 2015. pp. 260-296.

CAPÍTULO

El metabolismo de los acilgliceroles y los esfingolípidos

24

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar que el catabolismo de los triacilgliceroles implica la hidrólisis a ácidos grasos libres y glicerol, e indicar el destino de estos metabolitos.
- Indicar que el glicerol-3-fosfato es el sustrato para la formación de triacilgliceroles y fosfogliceroles y que un punto de ramificación en el fosfatidato conduce a la síntesis de fosfolípidos de inositol y cardiolipina y/o triacilgliceroles y otros fosfolípidos.
- Explicar que los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF, *platelet-activating factor*) están formados por una ruta compleja que comienza con fosfato de dihidroxiacetona.
- Ilustrar el papel de varias fosfolipasas en la degradación y remodelación de fosfolípidos.
- Explicar que la ceramida es el precursor a partir del cual se forman todos los esfingolípidos.
- Indicar cómo se producen la esfingomielina y los glucoesfingolípidos por la reacción de la ceramida con la fosfatidilcolina o el(los) residuo(s) de azúcar, respectivamente.
- Identificar ejemplos de procesos patológicos causados por defectos en la síntesis o descomposición de fosfolípidos o esfingolípidos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los acilgliceroles constituyen la mayoría de los lípidos en el cuerpo. Los triacilgliceroles son los principales lípidos en los depósitos de grasa y en los alimentos, y sus roles en el transporte y almacenamiento de lípidos y en diversas enfermedades como la obesidad, la diabetes y la hiperlipoproteinemia se describirán en capítulos posteriores. La naturaleza anfipática de los fosfolípidos y esfingolípidos los hace idealmente adecuados como el principal componente lipídico de las membranas celulares.

Los fosfolípidos también participan en el metabolismo de muchos otros lípidos. Algunos fosfolípidos tienen funciones especializadas; por ejemplo, el dipalmitoil lecitina es un componente principal del **surfactante pulmonar**, del cual se carece en el **síndrome de dificultad respiratoria** del recién nacido. Los fosfolípidos de inositol en la membrana celular actúan como precursores de los **segundos mensajeros hormonales** y el **factor activador de plaquetas** (PAF) es un alquilfosfolípido. Los glucoesfingolípidos, que contienen esfingosina y residuos de azúcar, así como un ácido graso, se encuentran en la capa externa de la membrana plasmática con sus cadenas de oligosacáridos vueltas hacia afuera. Forman parte del **glucocálix** de la superficie celular y son importantes 1) en la adhesión celular y el recuento celular, 2) como receptores de toxinas bacterianas (p. ej., la toxina que causa el cólera) y 3) como sustancias del grupo sanguíneo ABO.

Se han descrito aproximadamente una docena de **enfermedades de almacenamiento de glucolípidos** (p. ej., enfermedad de Gaucher y enfermedad de Tay-Sachs), cada una debido a un defecto genético en la ruta de degradación de glucolípidos en los lisosomas.

LA HIDRÓLISIS INICIA EL CATABOLISMO DE LOS TRIACILGLICEROLES

Los triacilgliceroles deben ser hidrolizados por una **lipasa** a sus ácidos grasos constituyentes y glicerol antes de que pueda continuar el catabolismo. Gran parte de esta hidrólisis (lipólisis) ocurre en el tejido adiposo con la liberación de ácidos grasos libres en el plasma, donde se encuentran combinados con albúmina sérica (véase figura 25-7). A esto le sigue la captura de ácidos grasos libres

en los tejidos (incluyendo hígado, corazón, riñones, músculos, pulmón, testículos y tejido adiposo, pero no fácilmente por el cerebro), donde se oxidan para obtener energía o reesterificarse. La utilización de glicerol depende de si dichos tejidos tienen la enzima **glicerol quinasa**, que se encuentra en cantidades significativas en el hígado, los riñones, el intestino, el tejido adiposo pardo y la glándula mamaria lactante.

LOS TRIACILGLICEROLES Y FOSFOGLICEROLES SE FORMAN POR ACILACIÓN DE TRIOSA FOSFATOS

Las principales rutas de la biosíntesis de triacilglicerol y fosfoglicerol se describen en la **figura 24-1**. Sustancias importantes tales como triacilgliceroles, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y cardiolipina, un componente de las membranas mitocondriales, se forman a partir de **glicerol-3-fosfato**. Los puntos de ramificación significativos en la ruta se producen en los pasos de **fosfatidato** y **diacilglicerol**. Los fosfogliceroles que contienen un enlace de éter (—C—O—C—), de los cuales los más conocidos son los plasmalógenos y el PAF, se derivan del **fosfato de dihidroxiacetona**. El glicerol-3-fosfato y el fosfato de dihidroxiacetona son intermediarios en la glucólisis, lo que propicia una conexión muy importante entre el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos (véase capítulo 14).

El fosfatidato es el precursor común en la biosíntesis de triacilgliceroles, muchos fosfogliceroles y la cardiolipina

Tanto el glicerol como los ácidos grasos deben activarse por el ATP antes de que puedan incorporarse a los acilgliceroles. La **glicerol quinasa** cataliza la activación de glicerol a *sn*-glicerol 3-fosfato. Si la actividad de esta enzima está ausente o es baja, como en los músculos o en el tejido adiposo, la mayor parte del glicerol-3-fosfato se forma a partir de dihidroxiacetona fosfato por la **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa** (**figura 24-2**).

Biosíntesis de los triacilgliceroles

Dos moléculas de acil-CoA, formadas por la activación de los ácidos grasos por la **acil-CoA sintetasa** (véase capítulo 22), se combinan con el glicerol-3-fosfato para formar **fosfatidato** (1,2-diacilglicerol fosfato). Esto tiene lugar en dos etapas, catalizadas por **glicerol-3-fosfato aciltransferasa** y **1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa**. El fosfatidato se convierte por la **fosfatidato fosfohidrolasa** (también llamada **fosfatidato fosfatasa** [PAP, *phosphatidate phosphatase*]) y **diacilglicerol aciltransferasa** (DGAT, *diacylglycerol acyltransferase*) en 1,2-diacilglicerol y luego triacilglicerol. Las **lipinas**, una familia de tres proteínas, tienen actividad PAP y también actúan como factores de transcripción que regulan la expresión de genes implicados en el metabolismo de los lípidos. La DGAT cataliza el único paso específico para la síntesis de triacilglicerol y se considera que limita la velocidad en la mayoría de las circunstancias. En la mucosa intestinal, la **monoacilglicerol aciltransferasa** convierte el **monoacilglicerol** en 1,2-diacilglicerol en la **ruta del monoacilglicerol**. La mayor parte de la actividad de estas enzimas reside en el retículo endoplásmico, pero algunas se encuentran en las mitocondrias. Aunque la proteína fosfatidato fosfohidrolasa se encuentra principalmente en el citosol, la forma activa de la enzima está unida a la membrana.

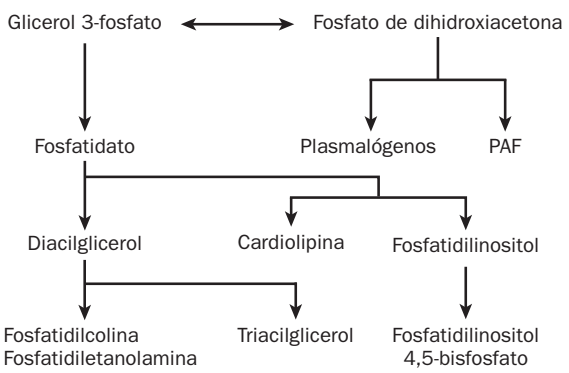


FIGURA 24-1 Descripción general de la biosíntesis de acilglicerol. (PAF: factor activador de plaquetas.)

Biosíntesis de los fosfolípidos

En la biosíntesis de la **fosfatidilcolina** y la **fosfatidiletanolamina** (figura 24-2), la colina o la etanolamina debe activarse primero por fosforilación mediante ATP seguido de la unión a CDP. La CDP-colina o CDP-etanolamina resultante reacciona con 1,2-diacilglicerol para formar fosfatidilcolina o fosfatidiletanolamina, respectivamente. La **fosfatidilserina** se forma a partir de fosfatidiletanolamina directamente por una reacción con serina (figura 24-2). La fosfatidilserina puede reformar la fosfatidiletanolamina por descarboxilación. Una ruta alternativa en el hígado permite que la fosfatidiletanolamina dé lugar directamente a la fosfatidilcolina por metilación progresiva del residuo de etanolamina. A pesar de estas fuentes de colina, se considera que es un nutriente esencial en muchas especies de mamíferos, aunque esto no se ha comprobado en humanos.

La regulación de la biosíntesis de triacilglicerol, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina está determinada por la disponibilidad de ácidos grasos libres. Aquellos que escapan a la oxidación se convierten preferentemente en fosfolípidos, y cuando se cumple este requisito, se usan para la síntesis de triacilglicerol.

La **cardiolipina** (difosfatidilglicerol; véase figura 21-9) es un fosfolípido presente en las mitocondrias. Está formada por fosfatidilglicerol, que a su vez se sintetiza a partir de CDP-diacilglicerol (figura 24-2) y glicerol-3-fosfato. La cardiolipina, que se encuentra en la membrana interna de las mitocondrias, tiene un papel clave en la estructura y función mitocondriales, y también se cree que está involucrada en la muerte celular programada (**apoptosis**).

Biosíntesis de los fosfolípidos de éter de glicerol

En los **fosfolípidos de éter de glicerol**, uno o más de los carbonos de glicerol están unidos a una cadena hidrocarbonada mediante un enlace éter en lugar de un enlace éster. Los **plasmalógenos** y el **PAF** son ejemplos importantes de este tipo de lípidos. La ruta biosintética se encuentra en los peroxisomas. El fosfato de dihidroxiacetona es el precursor del resto de glicerol (**figura 24-3**). Se combina con acil-CoA para dar 1-acildihidroxiacetona fosfato, y el enlace de éter se forma en la siguiente reacción, produciendo 1-alquildihidroxiacetona fosfato, que luego se convierte en 1-alquilglicerol 3-fosfato. Después de una acilación adicional en la posición 2, el 1-alquil-2-acilglicerol-3-fosfato resultante (análogo al fosfatidato en

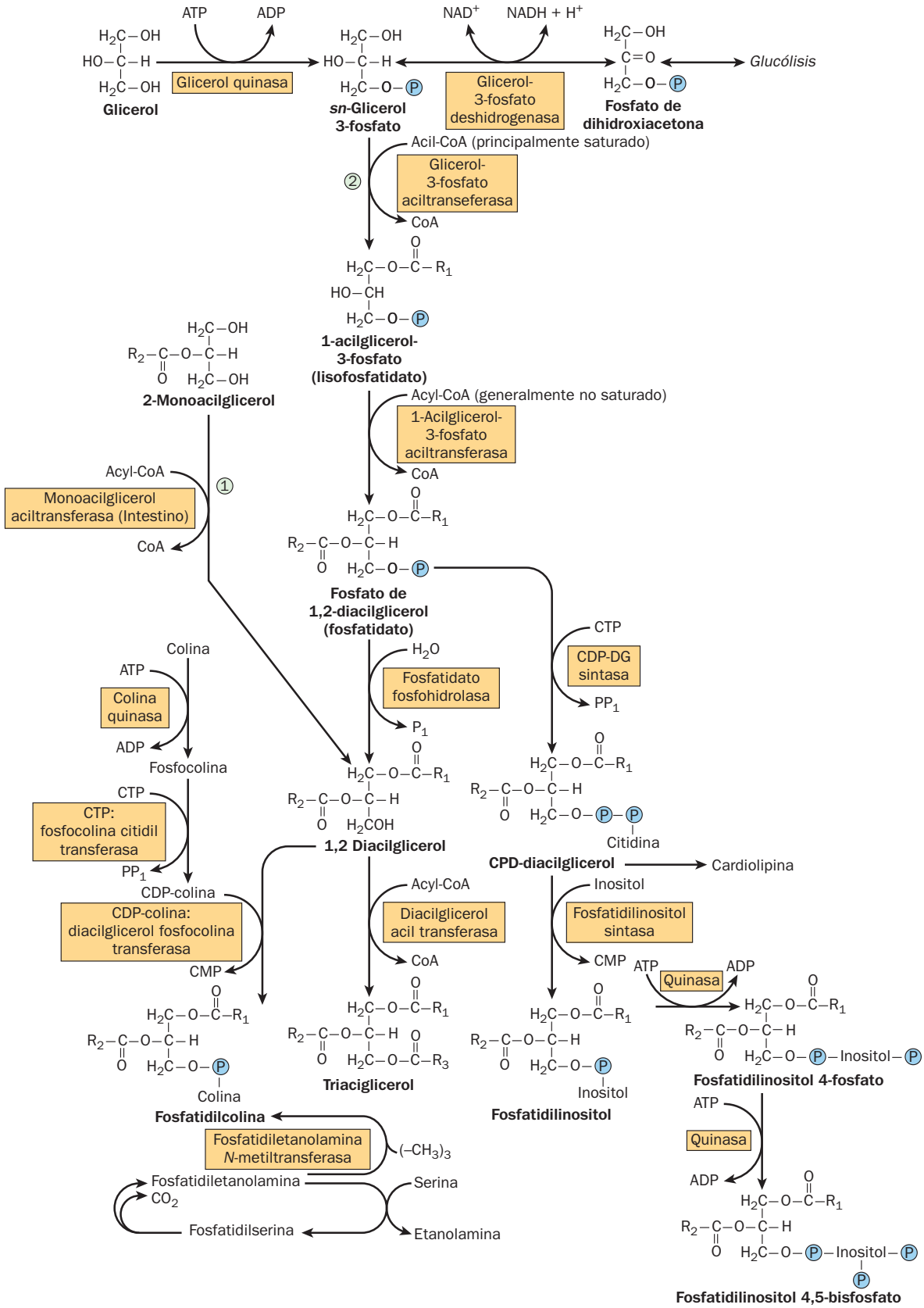


FIGURA 24-2 **Biosíntesis del triacilglicerol y los fosfolípidos.** ①: ruta del monoacilglicerol; ②: ruta del glicerol fosfato. La fosfatidiletanolamina se puede formar a partir de etanolamina por una ruta similar a la que se muestra para la formación de fosfatidilcolina a partir de colina.

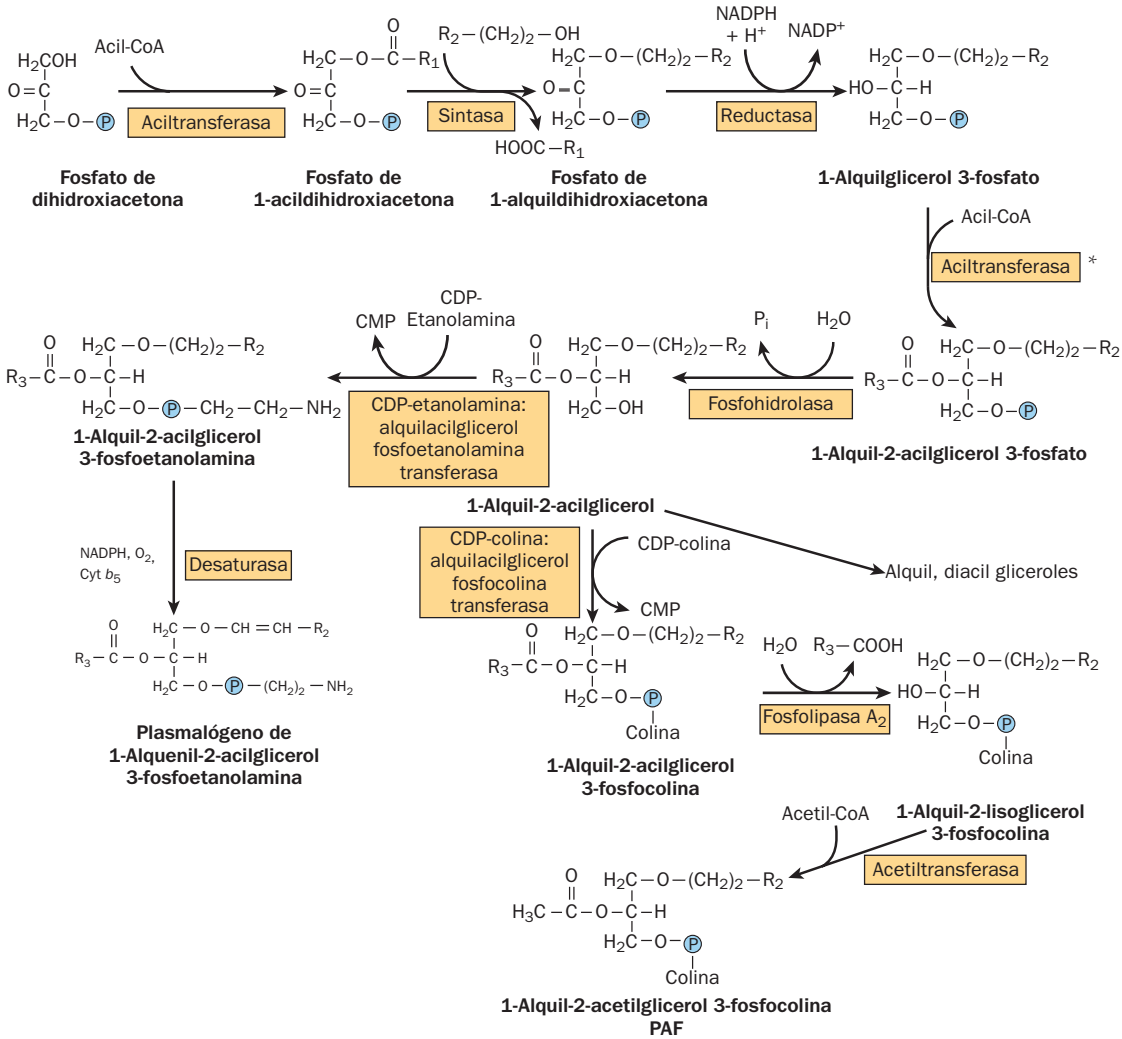


FIGURA 24-3 **Biosíntesis de lípidos de éter, incluyendo plasmalógenos y factor activador de plaquetas (PAF).** En la ruta por primera vez para la síntesis de PAF, se incorpora acetil-CoA a la fase,* evitando los dos últimos pasos en la ruta que se muestra aquí.

la figura 24-2) se hidroliza para dar el derivado de glicerol libre. Los plasmalógenos, que comprenden gran parte del fosfolípido en las mitocondrias, se forman por desaturación del derivado análogo de 3-fosfoetanolamina (figura 24-3). El PAF (1-alquil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina) se sintetiza a partir del derivado de 3-fosfocolina correspondiente. Está formado por muchas células sanguíneas y otros tejidos y agrega plaquetas a concentraciones tan bajas como 10^{-11} mol/L. También tiene propiedades hipotensoras y ulcerogénicas y está involucrado en una variedad de respuestas biológicas que incluyen inflamación, quimiotaxis y fosforilación de proteínas.

Las fosfolipasas permiten la degradación y la reorganización de los fosfogliceroles

Aunque los fosfolípidos se degradan activamente, cada porción de la molécula se renueva a una velocidad diferente; por ejemplo, el tiempo de renovación del grupo fosfato es diferente al del grupo 1-acil. Esto se debe a la presencia de enzimas que permiten la degradación parcial seguida de la resíntesis (**figura 24-4**). La **fosfolipasa A_2** cataliza la hidrólisis de glicerofosfolípidos para formar un ácido graso libre y lisofosfolípido, que a su vez puede ser reacilado por acil-CoA en presencia de una aciltransferasa. De manera diferente, el lisofosfolípido (p. ej., lisolecitina) es atacado por la **lisofosfolipasa**, formando la correspondiente base de gliceril fosforilo, que luego puede dividirse por una hidrolasa que libera glicerol-3-fosfato más una base. Las fosfolipasas **A_1, A_2, B, C** y **D** atacan los enlaces indicados en la **figura 24-5**. La **fosfolipasa A_2** se encuentra en el líquido pancreático y el veneno de serpiente, así como en muchos tipos de células; la **fosfolipasa C** es una de las principales toxinas secretadas por las bacterias y se sabe que la **fosfolipasa D** está implicada en la transducción de señales en mamíferos.

La **lisolecitina** (**lisofosfatidilcolina**) puede formarse por una ruta alternativa que implica **lecitina: colesterol aciltransferasa** (**LCAT,** *lecithin: cholesterol acyltransferase*). Esta enzima, que se encuentra en el plasma, cataliza la transferencia de un residuo de ácido graso desde la posición 2 de la lecitina al colesterol para formar un éster de colesterilo y lisolecitina, y se considera que es responsable de gran parte del éster de colesterilo en las lipoproteínas plasmáticas (véase capítulo 25).

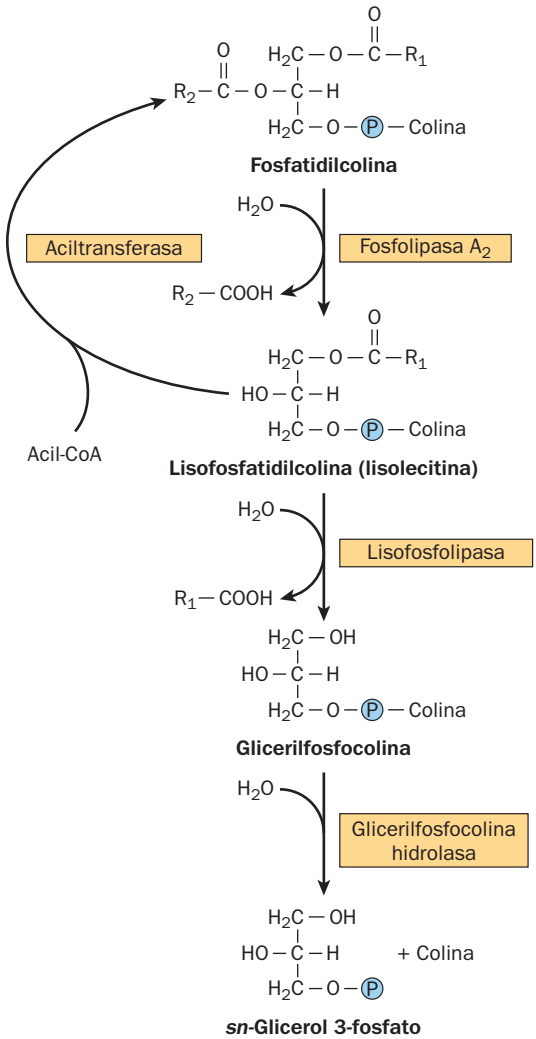


FIGURA 24-4 **Metabolismo de la fosfatidilcolina (lecitina).**

Los ácidos grasos saturados de cadena larga se encuentran predominantemente en la posición 1 de los fosfolípidos, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados (p. ej., los precursores de las prostaglandinas) se incorporan con mayor frecuencia en la posición 2. La incorporación de ácidos grasos a la lecitina se produce de tres maneras; por síntesis completa del fosfolípido; mediante transacilación entre un éster de colesterilo y lisolecitina, y por acilación directa de lisolecitina mediante acil-CoA. Por tanto, es posible un intercambio continuo de los ácidos grasos, particularmente con respecto a la introducción de ácidos grasos esenciales en moléculas de fosfolípidos.

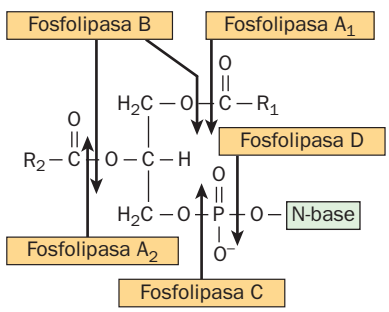


FIGURA 24-5 **Sitios de la actividad hidrolítica de fosfolipasas en un sustrato de fosfolípidos.**

TODOS LOS ESFINGOLÍPIDOS ESTÁN FORMADOS POR CERAMIDA

La **ceramida** (véase capítulo 21) se sintetiza en el retículo endoplásmico a partir del aminoácido serina como se muestra en la **figura 24-6**. La ceramida es una molécula de señalización importante (segundo mensajero) que regula determinadas rutas, incluyendo la muerte celular programada (**apoptosis**), el **ciclo celular,** la **diferenciación celular** y la **senescencia**.

Las **esfingomielinas** (véase figura 21-10) son fosfolípidos y se forman cuando la ceramida reacciona con la fosfatidilcolina para formar esfingomielina más diacilglicerol (**figura 24-7A**). Esto ocurre principalmente en el aparato de Golgi y en menor medida en la membrana plasmática.

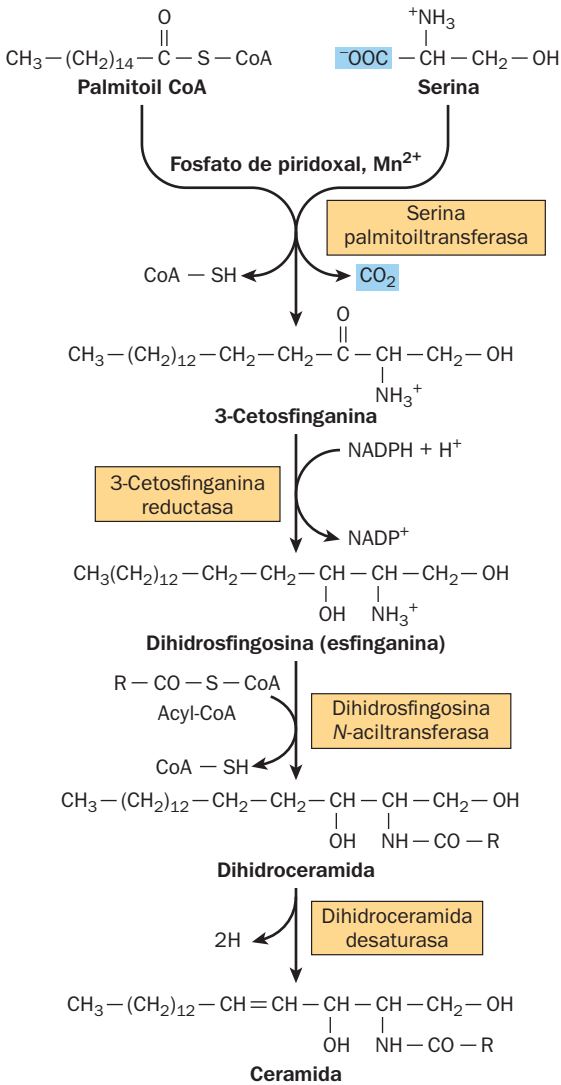


FIGURA 24-6 **Biosíntesis de ceramida.**

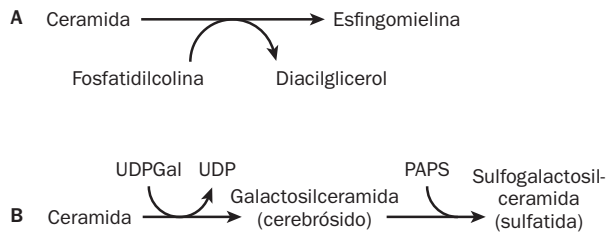


FIGURA 24-7 Biosíntesis de A) esfingomielina, B) galactosilceramida y su sulfo derivado. [PAPS (*adenosine 3'-phosphate-5'phosphosulfate*): "sulfato activo", adenosina 3'-fosfato-5'-fosfosulfato.]

Los glucoesfingolípidos son una combinación de ceramida con uno o más residuos de azúcar

Los glucoesfingolípidos más simples (**cerebrósidos**) son la **galactosilceramida** (**GalCer,** *galactosylceramide*) (véase figura 21-14) y la **glucosilceramida** (**GlcCer**, *glucosylceramide*). La GalCer es un lípido importante de la **mielina**, mientras que la GlcCer es el principal glucoesfingolípido de los **tejidos extraneurales** y un precursor de la mayoría de los glucoesfingolípidos más complejos. La GalCer (**figura 24-7B**) se forma en una reacción entre ceramida y uridina difosfato galactosa (UDPGal, *uridine diphosphate galactose*) (formada por epimerización de UDPGlc, figura 20-6).

La **sulfogalactosilceramida** y otros sulfolípidos tales como los **sulfo (galacto)-glicerolípidos** y los **sulfatos de esteroides** se forman después de nuevas reacciones que implican 3-'fosfoadenosina- 5'-fosfosulfato (PAPS: "sulfato activo"). Los **gangliósidos** se sintetizan a partir de la ceramida mediante la adición por etapas de azúcares activados (p. ej., UDPGlc y UDPGal) y un **ácido siálico**, generalmente ácido *N*-acetilneuramínico (**figura 24-8**). Se puede formar una gran cantidad de gangliósidos de peso molecular creciente. La mayoría de las enzimas que transfieren azúcares de los nucleótidos de azúcares (glucosil transferasas) se encuentran en el aparato de Golgi.

Los **glucoesfingolípidos** son componentes de la capa externa de las membranas plasmáticas y son importantes en la **adhesión celular** y el **reconocimiento celular**. Algunos son antígenos, por ejemplo, sustancias del grupo sanguíneo ABO. Ciertos gangliósidos funcionan como receptores de toxinas bacterianas (p. ej., de la **toxina del cólera**, que posteriormente activa la adenilil ciclasa).

ASPECTOS CLÍNICOS

La deficiencia de surfactante pulmonar causa el síndrome de dificultad respiratoria

El **surfactante pulmonar** se compone principalmente de lípidos con algunas proteínas y carbohidratos, e impide que los alvéolos colapsen. El fosfolípido **dipalmitoil-fosfatidilcolina** disminuye la tensión superficial en la interfase aire-líquido y por tanto reduce en gran medida el trabajo respiratorio, pero otros lípidos surfactantes y componentes proteicos también son importantes en la función surfactante. La deficiencia de surfactante pulmonar en los pulmones de muchos recién nacidos prematuros da lugar al **síndrome de dificultad respiratoria infantil** (**IRDS,** *infant respiratory distress syndrome*). La administración de surfactante natural o artificial es de beneficio terapéutico.

Los fosfolípidos y esfingolípidos están involucrados en la esclerosis múltiple y las lipidosis

Ciertas enfermedades se caracterizan por cantidades anormales de estos lípidos en los tejidos, a menudo en el sistema nervioso. Se pueden clasificar en dos grupos: 1) enfermedades desmielinizantes verdaderas y 2) esfingolipidosis.

En la **esclerosis múltiple**, que es una enfermedad desmielinizante, hay pérdida tanto de fosfolípidos (en particular plasmalógenos de etanolamina) como de esfingolípidos de la sustancia blanca. Por tanto, la composición lipídica de la sustancia blanca se parece a la de la materia gris. El líquido cefalorraquídeo muestra niveles elevados de fosfolípidos.

Las **esfingolipidosis (enfermedades de almacenamiento de lípidos)** son un grupo de padecimientos hereditarios causados por un defecto genético en el catabolismo de los lípidos que contienen esfingosina. Son parte de un grupo más grande de trastornos liso-

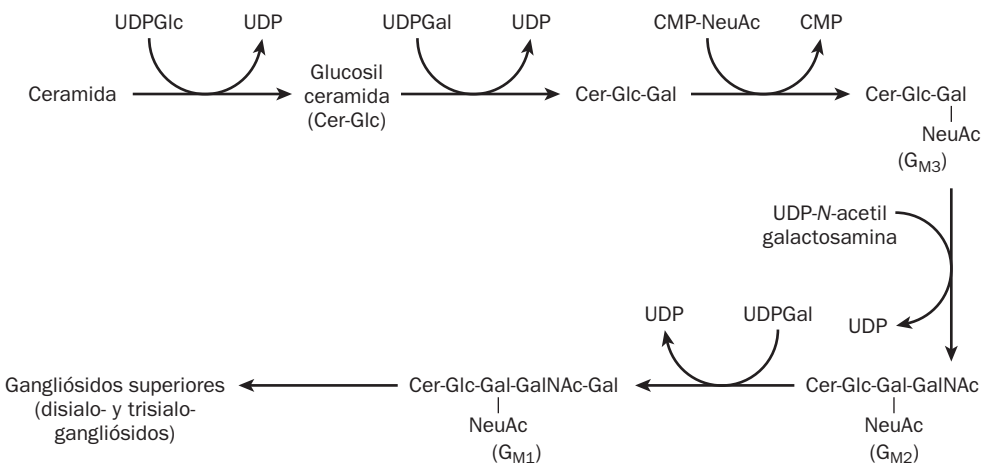


FIGURA 24-8 Biosíntesis de gangliósidos. [NeuAc (N-*acetylneuraminic acid*): ácido *N*-acetilneuramínico.]

CUADRO 24-1 Ejemplos de esfingolipidosis

Enfermedad	Deficiencia de enzimas	Acumulación de lípidos	Síntomas clínicos
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Cer—Glc—Gal(NeuAc)-┼-GalNAc G_{M2} GanglIósido	Retraso mental, ceguera, debilidad muscular
Enfermedad de Fabry	Alfagalactosidasa	Cer—Glc—Gal—┼-Gal Globotriaosilceramida	Erupción en la piel, insuficiencia renal (síntomas completos sólo en hombres, transmisión hereditaria recesiva ligada al cromosoma X)
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Cer—Gal—┼-OSO_3 3-Sulfogalactosilceramida	Retraso mental y trastornos psicológicos en adultos; desmielinización
Enfermedad de Krabbe	Betagalactosidasa	Cer—┼-Gal Galactosilceramida	Retraso mental; mielina casi ausente
Enfermedad de Gaucher	Betaglucosidasa	Cer—┼-Glc Glucosilceramida	Hígado y bazo aumentados de tamaño, erosión de huesos largos, retraso mental en bebés
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Cer—┼-P—colina Esfingomielina	Hígado y bazo agrandados, retraso mental; fatal en los primeros años de vida
Enfermedad de Farber	Ceramidasa	Acil—┼-Esfingosina Ceramida	Ronquera, dermatitis, deformación esquelética, retraso mental; fatal en los primeros años de vida

Abreviaturas: Cer (*ceramide*): ceramida; Gal (*galactose*): galactosa; Glc (*glucose*): glucosa; NeuAc: ácido *N*-acetilneuramínico; ┼: sitio de reacción enzimática deficiente.

somales y exhiben varias características constantes: 1) lípidos complejos que contienen ceramida acumulada en las células, particularmente neuronas, que causan neurodegeneración y acortan la duración de la vida. 2) La velocidad de **síntesis** del lípido almacenado es normal. 3) El defecto enzimático está en la **ruta de degradación lisosomal** de los esfingolípidos. 4) El grado en que disminuye la actividad de la enzima afectada es similar en todos los tejidos. No existe un tratamiento efectivo para muchas de las patologías, aunque se ha logrado cierto éxito con la **terapia de reemplazo de enzimas** y el **trasplante de médula ósea** en el tratamiento de las enfermedades de Gaucher y Fabry. Otros enfoques prometedores son la **terapia de privación de sustrato** para inhibir la síntesis de esfingolípidos y la **terapia de chaperón químico**. La **terapia génica** para trastornos lisosomales también está bajo investigación. Algunos ejemplos de las enfermedades de almacenamiento de lípidos más importantes se muestran en el **cuadro 24-1**.

RESUMEN

- Los triacilgliceroles son los principales lípidos que almacenan energía, mientras que los fosfogliceroles, la esfingomielina y los glucoesfingolípidos son anfipáticos y tienen funciones estructurales en las membranas celulares, así como otras funciones especializadas.
- Los triacilgliceroles y algunos fosfogliceroles se sintetizan por acilación progresiva de glicerol-3-fosfato. La ruta se bifurca en el fosfatidato, formando fosfolípidos de inositol y cardiolipina, por un lado y fosfolípidos de triacilglicerol y colina y etanolamina, por el otro.
- Los plasmalógenos y el PAF son fosfolípidos de éter formados a partir de fosfato de dihidroxiacetona.
- Los esfingolípidos se forman a partir de la ceramida (*N*-acilsulfosina). La esfingomielina está presente en membranas de organelos implicados en procesos de secreción (p. ej., aparato de Golgi). Los glucoesfingolípidos más simples son una combinación de ceramida más un residuo de azúcar (p. ej., GalCer en la mielina). Los gangliósidos son glucoesfingolípidos más complejos que contienen más residuos de azúcar más ácido siálico. Están presentes en la capa externa de la membrana plasmática, donde contribuyen al glucocálix y son importantes como antígenos y receptores celulares.
- Los fosfolípidos y esfingolípidos están involucrados en varios procesos patológicos, incluyendo el síndrome de dificultad respiratoria infantil (falta de surfactante pulmonar), esclerosis múltiple (desmielinización) y esfingolipidosis (incapacidad para descomponer los esfingolípidos en los lisosomas debido a defectos heredados en las enzimas hidrolasas).

REFERENCIAS

Eljamil AS. *Lipid Biochemistry: For Medical Sciences*. iUniverse; 2015.

Futerman AH. Sphingolipids. In: Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6th ed. Academic Press; 2015. pp. 297-327.

Ridgway ND. Phospholipid synthesis in mammalian cells. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6th ed. Academic Press; 2015. pp. 210-236.

CAPÍTULO

Transporte y almacenamiento de lípidos

25

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Identificar los cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas y las cuatro principales clases de lípidos que transportan.
- Ilustrar la estructura de una partícula de lipoproteína.
- Indicar los tipos principales de apolipoproteínas encontrados en las diferentes clases de lipoproteínas.
- Explicar que el triacilglicerol de la dieta se transporta al hígado en quilomicrones y desde el hígado a tejidos extrahepáticos en una lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, *very-low-density lipoprotein*), y que estas partículas se sintetizan en células intestinales y hepáticas, respectivamente, mediante procesos similares.
- Ilustrar los procesos mediante los cuales los quilomicrones son metabolizados por lipasas para formar restos de quilomicrones, que luego son eliminados de la circulación por el hígado.
- Explicar cómo la VLDL es metabolizada por lipasas a lipoproteína de densidad intermedia (IDL, *intermediate-density lipoprotein*) que puede ser eliminada por el hígado o convertida en lipoproteína de baja densidad (LDL, *low-density lipoprotein*), la cual cumple la función de liberar colesterol del hígado a tejidos extrahepáticos a través del receptor de LDL (apoB100, E).
- Explicar cómo se sintetiza la lipoproteína de alta densidad (HDL, *high-density lipoprotein*), indicar los mecanismos por los cuales acepta el colesterol de los tejidos extrahepáticos y lo devuelve al hígado en el transporte inverso de colesterol.
- Describir cómo el hígado desempeña un papel central en el transporte y metabolismo de los lípidos y cómo la secreción hepática de VLDL está regulada por la dieta y las hormonas.
- Indicar los roles de LDL y HDL en la estimulación y el retraso, respectivamente, del desarrollo de la aterosclerosis.
- Indicar las causas de la enfermedad del hígado graso alcohólica y no alcohólica (NAFLD, *nonalcoholic fatty liver disease*).
- Explicar los procesos mediante los cuales se liberan los ácidos grasos del triacilglicerol almacenado en el tejido adiposo.
- Comprender el papel del tejido adiposo pardo en la generación de calor corporal.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La grasa absorbida de la dieta y los lípidos sintetizados por el hígado y el tejido adiposo deben ser transportados entre los diversos tejidos y órganos para su utilización y almacenamiento. Como los lípidos son insolubles en agua, el problema de cómo transportarlos en el plasma sanguíneo acuoso se resuelve asociando lípidos no polares (ésteres de triacilglicerol y colesterilo) con lípidos anfipáticos (fosfolípidos y colesterol) y proteínas para crear **lipoproteínas miscibles en agua**.

En un omnívoro como el humano se ingieren calorías en exceso en la fase anabólica del ciclo de alimentación, seguida por un periodo de balance calórico negativo cuando el organismo recurre a sus reservas de carbohidratos y grasas. Las lipoproteínas median este ciclo al transportar los lípidos de los intestinos como **quilomicrones**, y del hígado como **lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)**, a la mayoría de los tejidos para su oxidación y al tejido adiposo para su almacenamiento. El lípido se moviliza desde el tejido adiposo como ácidos grasos libres (FFA, *free fatty acids*) unidos a la albúmina sérica. Las anomalías del metabolismo de las lipoproteínas provocan diversas **hipo** o **hiperlipoproteinemias**. La más común de estas se asocia con la **diabetes mellitus**, donde la deficiencia de insulina causa una movilización excesiva de FFA y la subutilización de quilomicrones y VLDL, lo que lleva a la **hipertriacilglicerolemia**. La mayoría de las otras afecciones patológicas que afectan el transporte de lípidos se deben principalmente a defectos hereditarios, algunos de los cuales causan **hipercolesterolemia** y **ateroesclerosis** prematura (véase cuadro 26-1). La **obesidad**, en particular la obesidad abdominal, es un factor de riesgo en el aumento de la mortalidad, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia, hiperglucemia y diversas disfunciones endocrinas.

LOS LÍPIDOS SE TRANSPORTAN EN EL PLASMA COMO LIPOPROTEÍNAS

Cuatro clases principales de lípidos están presentes en las lipoproteínas

Los lípidos plasmáticos consisten en **triacilgliceroles** (16%), **fosfolípidos** (30%), **colesterol** (14%) y **ésteres de colesterilo** (36%) y una fracción mucho más pequeña de ácidos grasos de cadena larga no esterificados (o FFA) (4%). Esta última fracción, **FFA**, es metabólicamente la más activa de los lípidos plasmáticos.

Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas

Dado que la grasa es menos densa que el agua, la densidad de una lipoproteína disminuye a medida que aumenta la proporción de lípido a proteína (**cuadro 25-1**). Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas que son importantes desde el punto de vista fisiológico y en el diagnóstico clínico. Estos son 1) **quilomicrones**, derivados de la absorción interna de triacilglicerol y otros lípidos; 2) **VLDL**, proveniente del hígado para la exportación de triacilglicerol; 3) **lipoproteínas de baja densidad** (LDL), que representan una etapa final en el catabolismo de VLDL; y 4) **lipoproteínas de alta densidad** (HDL), implicadas en el transporte de colesterol y también en el metabolismo de VLDL y quilomicrones. El triacilglicerol es el lípido predominante en quilomicrones y VLDL, mientras que el colesterol y el fosfolípido son los lípidos predominantes en LDL y HDL, respectivamente (cuadro 25-1). Las lipoproteínas también se pueden clasificar de acuerdo con sus propiedades electroforéticas en **lipoproteínas** α (HDL), β (LDL) y **pre-**β (VLDL).

Las lipoproteínas consisten en un núcleo no polar y una capa superficial única de lípidos anfipáticos

El **núcleo lipídico no polar** consiste principalmente en **triacilglicerol** y **éster** de **colesterilo** y está rodeado por una **capa superficial**

CUADRO 25-1 Composición de las lipoproteínas en el plasma de los humanos

Lipoproteína	Fuente	Diámetro (nm)	Densidad (g/mL)	Composición		Principales componentes de lípidos	Apolipoproteínas
				Proteína (%)	Lípido (%)		
Quilomicrones	Intestino	90-1 000	<0.95	1-2	98-99	Triacilglicerol	A-I, A-II, A-IV,[a] B-48, C-I, C-II, C-III, E
Restos de quilomicrones	Quilomicrones	45-150	<1.006	6-8	92-94	Triacilglicerol, fosfolípidos, colesterol	B-48, E
VLDL	Hígado (intestino)	30-90	0.95-1.006	7-10	90-93	Triacilgricerol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25-35	1.006-1.019	11	89	Triacilglicerol, colesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20-25	1.019-1.063	21	79	Colesterol	B-100
HDL	Hígado, intestino, VLDL, quilomicrones					Fosfolípidos, colesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D,[b] E
HDL_1		20-25	1.019-1.063	32	68		
HDL_2		10-20	1.063-1.125	33	67		
HDL_3		5-10	1.125-1.210	57	43		
Preβ-HDL[c]		<5	>1.210				A-I
Albúmina/ácidos grasos libres	Tejido adiposo		>1.281	99	1	Ácidos grasos libres	

[a] Se secretan con quilomicrones pero se transfieren a HDL.
[b] Se asocia con las subfracciones HDL_2 y HDL_3.
[c] Parte de una fracción menor conocida como VHDL (*very-high-density lipoprotein*): lipoproteínas de muy alta densidad
Abreviaturas: HDL: lipoproteínas de alta densidad; IDL: lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: lipoproteínas de baja densidad; VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

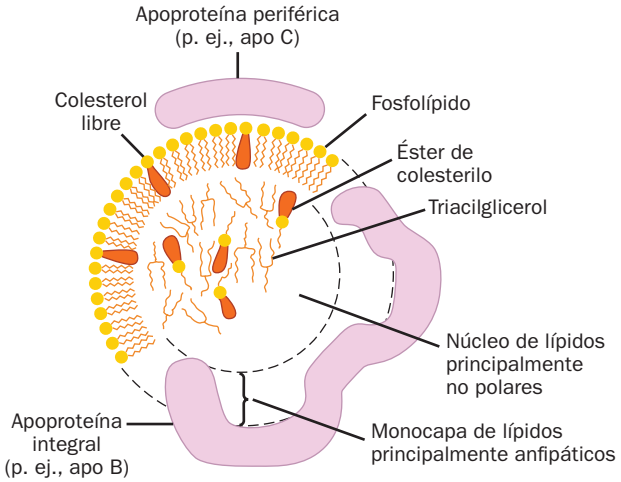


FIGURA 25-1 Estructura generalizada de una lipoproteína plasmática. Se encuentran pequeñas cantidades de éster de colesterilo y triacilglicerol en la capa superficial y un poco de colesterol libre en el núcleo.

única de **fosfolípidos anfipáticos** y moléculas de **colesterol** (**figura 25-1**). Estos están orientados de modo que sus grupos polares se vuelvan hacia afuera hacia el medio acuoso, como en la membrana celular (véanse capítulos 21 y 40). El resto proteico de una lipoproteína se conoce como **apolipoproteína** o **apoproteína**, el cual constituye casi 70% de algunas HDL y tan poco como 1% de los quilomicrones.

La distribución de las apolipoproteínas caracteriza a la lipoproteína

Una o más apolipoproteínas están presentes en cada lipoproteína. Suelen abreviarse como apo seguido de la letra A, B, C, etc. (cuadro 25-1). Algunas apolipoproteínas son integrales y no se pueden eliminar (p. ej., apo B), mientras que otras se unen a la superficie y se pueden transferir libremente a otras lipoproteínas, por ejemplo, apos C y E). Las principales apolipoproteínas de HDL (α-lipoproteína) son apo As (cuadro 25-1). La apolipoproteína principal de LDL (β-lipoproteína) es apo B (B-100), la cual se encuentra también en VLDL. Los quilomicrones contienen una forma truncada (48% de apo B-100) de apo B (B-48) que se sintetiza en el intestino, mientras que B-100 se sintetiza en el hígado. La Apo B-100 es una de las cadenas polipeptídicas únicas más largas conocidas, la cual tiene 4 536 aminoácidos y una masa molecular de 550 000 Da. Para producir Apo B-48, se introduce una señal de parada en la transcripción de mRNA para apo B-100 mediante una enzima de edición de ácido ribonucleico (RNA, *ribonucleic acid*). Apos C-I, C-II y C-III son polipéptidos más pequeños (masa molecular 7 000-9 000 Da) libremente transferibles entre varias lipoproteínas diferentes. Apo E, que se encuentra en VLDL, HDL, quilomicrones y restos de quilomicrones, también se puede transferir libremente; representa de 5 a 10% del total de apolipoproteínas VLDL en sujetos normales.

Las apolipoproteínas cumplen varias funciones: 1) pueden formar parte de la estructura de la lipoproteína, por ejemplo, apo B; 2) son cofactores enzimáticos, por ejemplo, C-II para la lipoproteína lipasa, A-I para la lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT, *lecithin:cholesterol acyltransferase*), o inhibidores enzimáticos, por ejemplo, apo A-II y apo C-III para la lipoproteína lipasa, apo C-I para la proteína de transferencia de éster de colesterilo; y 3) actúan como ligandos para la interacción con receptores de lipoproteínas en tejidos, por ejemplo, apo B-100 y apo E para el receptor de LDL, apo E para la proteína 1 relacionada con el receptor de LDL (LRP-1), que reconoce los restos de lipoproteínas (véase más abajo) y la apo A-I para el receptor de HDL. Se cree que apo A-IV tiene un papel en el metabolismo de los quilomicrones y también puede actuar como un regulador de la homeostasis de la saciedad y la glucosa, convirtiéndola en un objetivo terapéutico potencial para el tratamiento de la diabetes y la obesidad, mientras que se cree que la apo D constituya un factor importante en los trastornos neurodegenerativos humanos.

LOS ÁCIDOS GRASOS LIBRES SE METABOLIZAN RÁPIDAMENTE

FFA (también denominados ácidos grasos no esterificados [NEFA, *nonesterified fatty acids*] o ácidos grasos no esterificados) surgen en el plasma a partir de la descomposición del triacilglicerol en el tejido adiposo o como resultado de la acción de la lipoproteína lipasa en los triacilgliceroles del plasma. Se encuentran **en combinación con la albúmina**, un solubilizante muy eficaz. Los niveles son bajos en la condición de alimentación completa y aumentan de 0.7 a 0.8 mEq/mL en el estado de inanición. En la **diabetes mellitus** no controlada, el nivel puede aumentar hasta 2 mEq/mL.

Los tejidos eliminan FFA de la sangre con extrema rapidez y se oxidan (satisfacen 25 a 50% de los requerimientos energéticos en la inanición) o se esterifican para formar triacilglicerol. En la inanición, los lípidos esterificados de la circulación o en los tejidos también se oxidan, particularmente en las células del corazón y del músculo esquelético, donde se encuentran cantidades considerables de lípidos.

La captura de FFA por los tejidos se relaciona directamente con la concentración plasmática de FFA, que a su vez está determinada por la velocidad de lipólisis en el tejido adiposo. Después de la disociación del complejo ácido graso-albúmina en la membrana plasmática, los ácidos grasos se unen a una **proteína de transporte de ácidos grasos de membrana** que actúa como cotransportador transmembrana con Na^+. Al ingresar al citosol, los FFA se unen a **proteínas de unión a ácidos grasos** intracelulares. Se cree que el papel de estas proteínas en el transporte intracelular es similar al de la albúmina sérica en el transporte extracelular de ácidos grasos de cadena larga.

EL TRIACILGLICEROL SE TRANSPORTA DESDE LOS INTESTINOS EN QUILOMICRONES Y DESDE EL HÍGADO EN LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD

Por definición, los **quilomicrones** se encuentran en el **quilo** formado sólo por el sistema linfático que **drena el intestino**. Son responsables del transporte de todos los lípidos de la dieta a la circulación. En el quilo también se encuentran pequeñas cantidades de VLDL; sin embargo, la mayoría de las **VLDL en el plasma** son de origen hepático. **Son los vehículos de transporte de triacilglicerol desde el hígado a los tejidos extrahepáticos**.

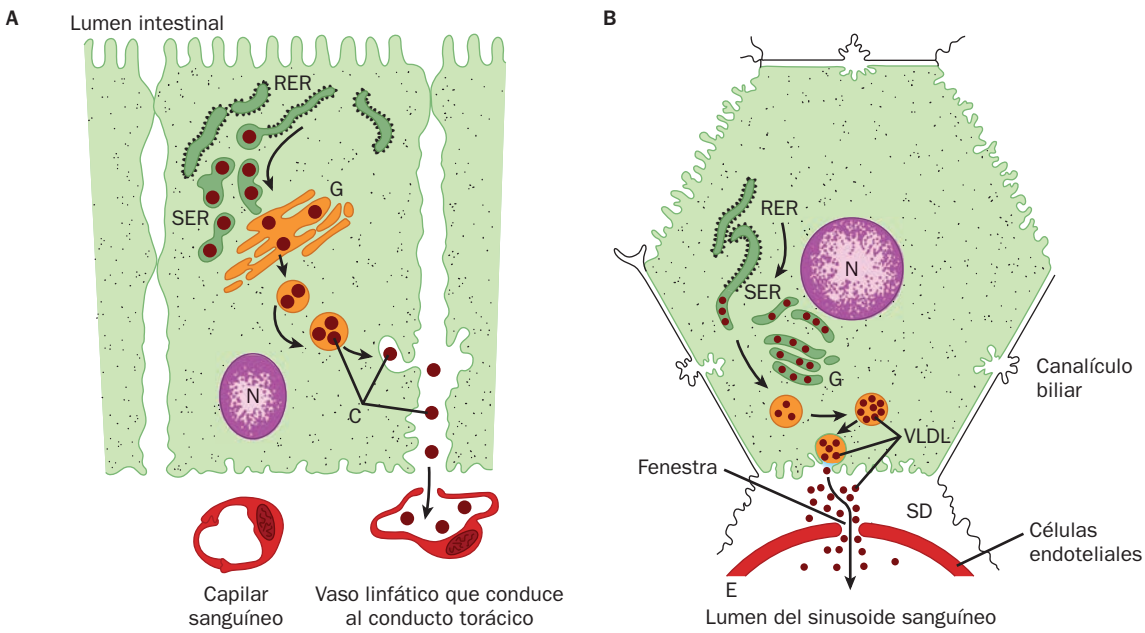


FIGURA 25-2 La formación y secreción de A) quilomicrones por una célula intestinal y B) lipoproteínas de muy baja densidad por una célula hepática. [C: quilomicrones; E: endotelio; G: aparato de Golgi; N: *núcleo;* RER (*rough endoplasmic reticulum*): retículo endoplasmático rugoso; SD (*space of Disse*): espacio de Disse, que contienen plasma sanguíneo; SER (*smooth endoplasmic reticulum*): retículo endoplasmático liso; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad]. La apolipoproteína B, sintetizada en el RER, se incorpora en partículas con triacilglicerol, colesterol y fosfolípidos en el SER. Después de la adición de residuos de carbohidratos en el G, se liberan de la célula mediante pinocitosis inversa. Los quilomicrones pasan al sistema linfático. VLDL se secretan en el espacio de Disse y luego en los sinusoides hepáticos a través de la fenestra en el revestimiento endotelial.

Existen sorprendentes similitudes en los mecanismos de formación de quilomicrones por las células intestinales y de VLDL por las células del parénquima hepático (**figura 25-2**), tal vez porque, aparte de la glándula mamaria, el intestino y el hígado son los únicos tejidos a partir de los cuales se secretan partículas lipídicas. Los quilomicrones y VLDL recién secretados o "nacientes" contienen sólo una pequeña cantidad de apolipoproteínas C y E, y el complemento completo se adquiere de HDL en la circulación (**figuras 25-3**

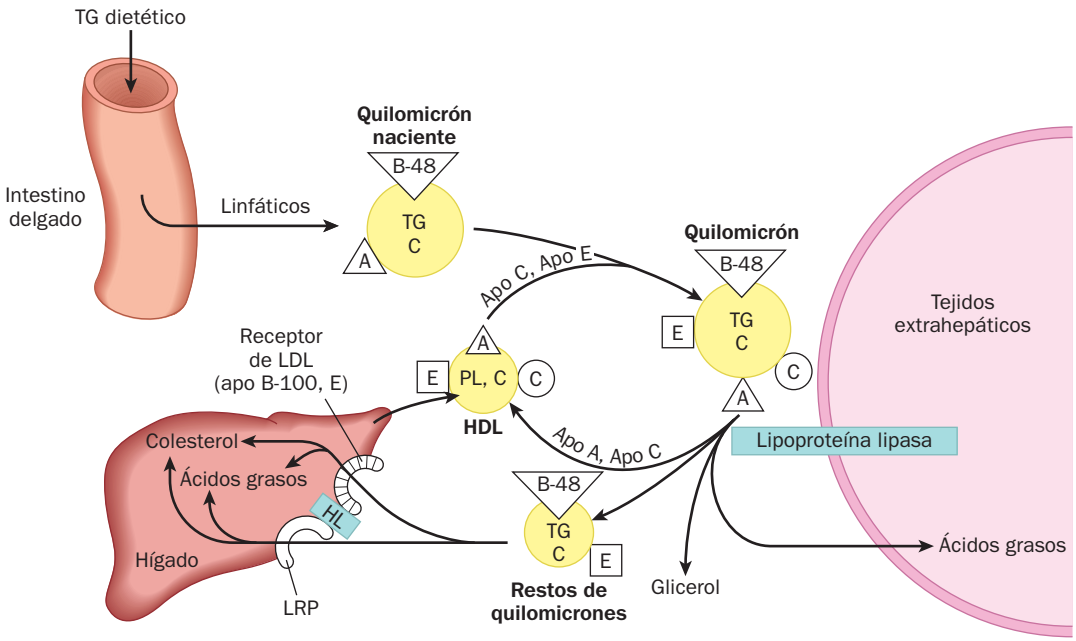


FIGURA 25-3 Destino metabólico de los quilomicrones. (A: apolipoproteína A; B-48: apolipoproteína B-48; C: apolipoproteína C; C: colesterol y éster de colesterilo; E: apolipoproteína E; HDL: lipoproteína de alta densidad; HL (*hepatic lipase*): lipasa hepática; LRP (*LDL-receptor–related protein*): proteína relacionada con el receptor de LDL; PL (*phospholipid*): fosfolípido; TG (*triacylglycerol*): triacilglicerol). Sólo se muestran los lípidos predominantes.

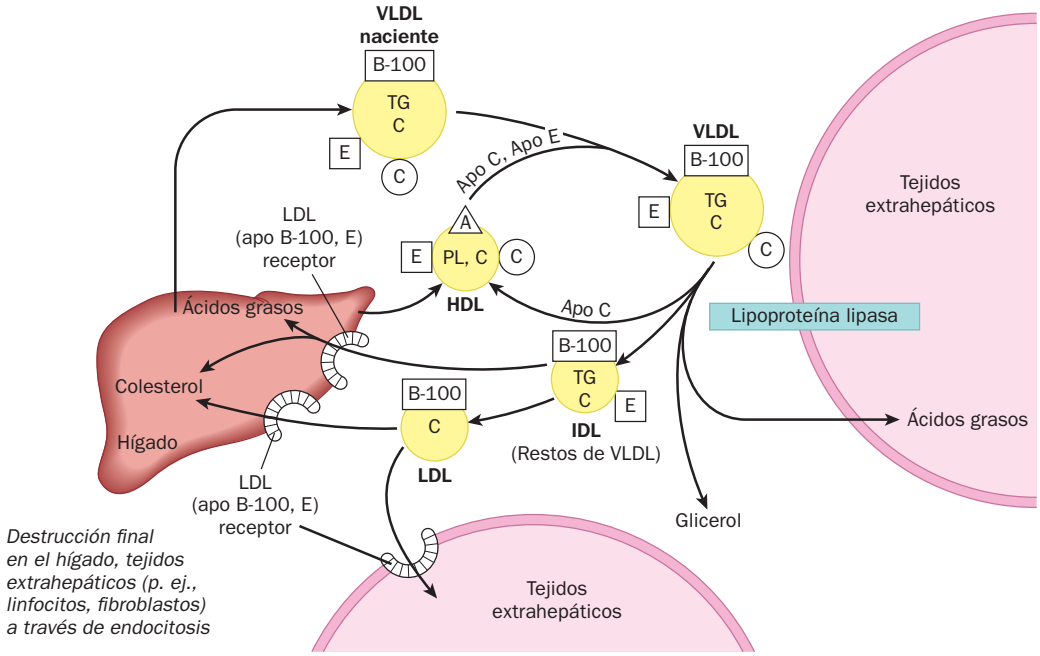


FIGURA 25-4 Destino metabólico de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y producción de lipoproteínas de baja densidad (LDL). (A: apolipoproteína A; B-100: apolipoproteína B-100; C: apolipoproteína C; C: colesterol y éster de colesterilo; E: apolipoproteína E; HDL: lipoproteína de alta densidad; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; PL: fosfolípido; TG: triacilglicerol). Sólo se muestran los lípidos predominantes. Es posible que algunas IDL también se metabolicen a través de la proteína-1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP-1).

y **25-4**). Apo B, sin embargo, es una parte integral de las partículas de lipoproteínas. Se incorpora a las partículas durante su ensamblaje dentro de las células y es esencial para la formación de quilomicrones y VLDL. En la **abetalipoproteinemia** (una enfermedad poco común), las lipoproteínas que contienen apo B no se forman y las gotas de lípidos se acumulan en el intestino y el hígado.

LOS QUILOMICRONES Y LAS LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD SE CATABOLIZAN RÁPIDAMENTE

La eliminación de quilomicrones de la sangre es rápida, el tiempo medio de desaparición comienza en menos de 1 hora en humanos. Las partículas más grandes se catabolizan con mayor rapidez que las más pequeñas. Los ácidos grasos que se originan del quilomicrón triacilglicerol se distribuyen principalmente al tejido adiposo, corazón y músculo (80%), mientras que ~20% van al hígado. Sin embargo, **el hígado no metaboliza significativamente los quilomicrones nativos o la VLDL**; por tanto, los ácidos grasos en el hígado deben ser secundarios a su metabolismo en los tejidos extrahepáticos.

Los triacilgliceroles de quilomicrones y VLDL son hidrolizados por la lipoproteína lipasa para formar restos de lipoproteínas

La **lipoproteína lipasa** es una enzima localizada en las paredes de los capilares sanguíneos, anclada al endotelio por cadenas de proteoglicanos cargadas negativamente de heparán sulfato. Se ha encontrado en el corazón, el tejido adiposo, el bazo, los pulmones, la médula renal, la aorta, el diafragma y la glándula mamaria lactante, aunque no está activa en el hígado adulto. Normalmente no se encuentra en la sangre; sin embargo, después de la inyección de **heparina**, la lipoproteína lipasa se libera de sus sitios de unión al heparán sulfato en la circulación. La **lipasa hepática** está unida a la superficie sinusoidal de las células hepáticas y es liberada también por la heparina. Sin embargo, esta enzima no reacciona fácilmente con quilomicrones o VLDL, pero está involucrada en el resto de quilomicrones y en el metabolismo de HDL (véase más abajo).

Tanto los **fosfolípidos** como **apo C-II** se requieren como cofactores para la actividad de la lipoproteína lipasa, mientras que **apo A-II** y **apo C-III** actúan como inhibidores. La hidrólisis ocurre mientras las lipoproteínas se unen a la enzima en el endotelio. El triacilglicerol se hidroliza progresivamente a través de un diacilglicerol a un monoacilglicerol y finalmente a FFA más glicerol. Algunos de FFA liberados vuelven a la circulación, unidos a la albúmina, pero la mayor parte se transporta al tejido (figuras 25-3 y 25-4). La lipoproteína lipasa del corazón tiene un K_m bajo para el triacilglicerol, aproximadamente una décima parte de la enzima en el tejido adiposo. Esto permite que la administración de ácidos grasos a partir de triacilglicerol sea **redirigida desde el tejido adiposo al corazón en estado de inanición** cuando disminuye el triacilglicerol en plasma. Una redirección similar a la glándula mamaria ocurre durante la lactancia, lo que permite la captura de ácido graso de triacilglicerol de la lipoproteína para la síntesis de **grasa láctea**. El **receptor de VLDL** desempeña un papel importante en la distribución de ácidos grasos de triacilglicerol VLDL a los adipocitos al unirse a VLDL y ponerla en estrecho contacto con la lipoproteína lipasa. En el tejido adiposo, la **insulina** mejora la síntesis de lipoproteína lipasa en los adipocitos y su translocación a la superficie luminal del endotelio capilar.

La reacción con la lipoproteína lipasa da como resultado la pérdida de 70 a 90% del triacilglicerol de quilomicrones y la pérdida de apo C (que vuelve a HDL) pero no apo E, el cual se conserva. El **resto de quilomicrón** resultante es aproximadamente la mitad del diámetro del quilomicrón original y está relativamente enriquecido en colesterol y ésteres de colesterilo debido a la pérdida de triacilglicerol (figura 25-3). Se producen cambios similares a VLDL, con la formación de **restos de VLDL** [también llamada **lipoproteína de densidad intermedia (IDL)** (figura 25-4)].

El hígado es responsable de la captura de restos de lipoproteínas

El ***hígado recibe los restos de quilomicrones*** mediante endocitosis mediada por receptor, y los ésteres de colesterilo y triacilgliceroles se hidrolizan y metabolizan. La captura está mediada por **apo E** (figura 25-3), a través de dos receptores dependientes de apo E, el **receptor de LDL (apo B-100, E)** y la **proteína 1 relacionada con el receptor de LDL (LRP-1)**. La lipasa hepática tiene una doble función: 1) actúa como un ligando para facilitar la captura de los restos y 2) hidroliza los restos de triacilglicerol y el fosfolípido.

Después de que VLDL se haya convertido en IDL, el hígado puede recibir directamente los restos de partículas a través del receptor LDL (apo B-100, E), o pueden metabolizarse adicionalmente a LDL en la circulación. Sólo una molécula de apo B-100 está presente en cada una de estas partículas de lipoproteínas, y esta se conserva durante las transformaciones. Por tanto, cada partícula de LDL se deriva de una sola partícula precursora de VLDL (figura 25-4). En los seres humanos, una proporción relativamente grande de IDL forma LDL, lo que explica el aumento de las concentraciones de LDL en los seres humanos en comparación con muchos otros mamíferos.

LDL SE METABOLIZA A TRAVÉS DEL RECEPTOR LDL

El hígado y muchos tejidos extrahepáticos expresan el **receptor LDL (apo B-100, E)**. Está designado así porque es específico para apo B-100 pero no para B-48, que carece del dominio carboxilo terminal de B-100 que contiene el ligando del receptor de LDL, y también absorbe lipoproteínas ricas en apo E. Aproximadamente 30% de LDL se degrada en tejidos extrahepáticos y 70% en el hígado. Existe una correlación positiva entre la incidencia de **aterosclerosis** y la concentración plasmática de colesterol LDL. El receptor LDL (apoB-100, E) es defectuoso en la **hipercolesterolemia familiar**, un trastorno genético en el que aumentan los niveles de colesterol LDL en la sangre, lo que causa aterosclerosis prematura (cuadro 26-1). Para un análisis más detallado de la regulación del receptor de LDL, véase el capítulo 26.

HDL PARTICIPA EN EL METABOLISMO DE LA LIPOPROTEÍNA TRIACILGLICEROL Y DEL COLESTEROL

HDL se sintetiza y segrega tanto del hígado como del intestino (**figura 25-5**). Sin embargo, apo C y apo E se sintetizan en el hígado y

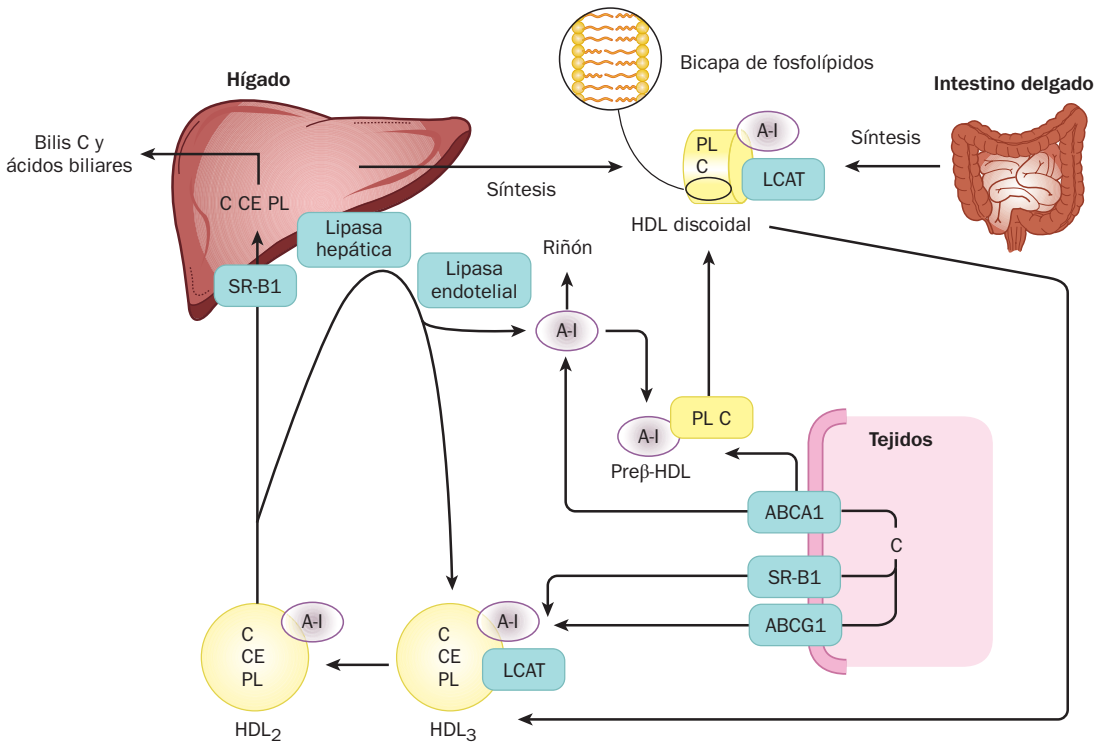


FIGURA 25-5 Metabolismo de la lipoproteína de alta densidad (HDL) en el transporte inverso de colesterol. (A-I: apolipoproteína A-I; ABCA1: transportador A1 del casete de unión al ATP; ABCG1: transportador G1 del casete de unión al ATP; C: colesterol; CE (*cholesteryl ester*): éster de colesterilo; LCAT, lecitina: colesterol aciltransferasa; PL: fosfolípido; SR-B1: receptor scavenger B1.) Preβ-HDL, HDL_2, HDL_3-véase cuadro 25-1. Los constituyentes superficiales excedentes de la acción de la lipoproteína lipasa en quilomicrones y VLDL son otra fuente de preβ-HDL.

se transfieren de la HDL hepática a la HDL intestinal cuando esta última ingresa al plasma. Una función principal de HDL es actuar como un repositorio para apo C y apo E requeridas en el metabolismo de quilomicrones y VLDL. La HDL naciente consiste en bicapas de fosfolípidos discoidales que contienen apo A y colesterol libre. Estas lipoproteínas son similares a las partículas que se encuentran en el plasma de pacientes con una deficiencia de la enzima plasmática **LCAT** y en el plasma de pacientes con **ictericia obstructiva**. LCAT, y el activador de LCAT apo A-I, se unen a las partículas discoidales, y el fosfolípido de la superficie y el colesterol libre se convierten en ésteres de colesterilo y lisolecitina (véase capítulo 24). Los ésteres de colesterilo no polares se mueven hacia el interior hidrofóbico de la bicapa, mientras que la lisolecitina se transfiere a la albúmina plasmática. Por tanto, se genera un núcleo no polar, formando una HDL esférica, pseudomicelar, cubierta por una película superficial de lípidos polares y apolipoproteínas. Esto ayuda a eliminar el exceso de colesterol no esterificado de las lipoproteínas y los tejidos como se describe más abajo. El **receptor B1 scavenger (SR-B1) de clase B** se ha identificado como un **receptor de HDL con un doble papel en el metabolismo de HDL**. En el hígado y en tejidos esteroidogénicos, se une a HDL a través de apo A-I, y el éster de colesterilo se distribuye selectivamente a las células, aunque la partícula en sí misma, incluyendo la apo A-I, no se absorbe. Por otro lado, en los tejidos, SR-B1 media la aceptación del colesterol liberado de las células por HDL, que luego lo transporta al hígado para su excreción a través de la bilis (ya sea como colesterol o después de la conversión a ácidos biliares) en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (figura 25-5). La HDL_3, generada a partir de HDL discoidal por la acción de LCAT, acepta colesterol de los tejidos a través del **SR-B1** y el colesterol es esterificado luego por LCAT, aumentando el tamaño de las partículas para formar la HDL_2 menos densa. La HDL_3 se reforma luego, después de la administración selectiva de éster de colesterilo al hígado a través del SR-B1 o por la hidrólisis del fosfolípido de HDL_2 y el triacilglicerol por la lipasa hepática y la lipasa endotelial. Este intercambio de HDL_2 y HDL_3 se denomina **ciclo HDL** (figura 25-5). La apo A-I libre se libera mediante estos procesos y forma **preβ-HDL** después de asociarse con una cantidad mínima de fosfolípidos y colesterol. El exceso de apo A-I se destruye en el riñón. Un segundo mecanismo importante para el transporte de colesterol inverso implica a los **transportadores A1 del casete de unión al ATP (ABCA1)** y **G1 (ABCG1)**. Estos transportadores son miembros de una familia de proteínas transportadoras que acoplan la hidrólisis de trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) **a la unión de un sustrato, lo que permite su transporte a través de la membrana.** El ABCG1 media el transporte de colesterol desde las células a HDL, mientras que el ABCA1 estimula preferentemente el flujo de salida a partículas pobremente lipidadas tales como preβ-HDL o apo A-1, que luego se convierten en HDL_3 a través de HDL discoidales (figura 25-5). La preβ-HDL es la forma más potente de HDL que induce la salida de colesterol de los tejidos.

Las concentraciones de HDL varían recíprocamente con las concentraciones plasmáticas de triacilglicerol y directamente con la actividad de la lipoproteína lipasa. Esto puede deberse a los constituyentes superficiales sobrantes, por ejemplo, fosfolípido y apo A-I, que se liberan durante la hidrólisis de quilomicrones y VLDL y que contribuyen a la formación de preβ-HDL y HDL discoidal. Las concentraciones de HDL_2 están **inversamente relacionadas con la incidencia de aterosclerosis**, posiblemente porque reflejan la eficacia del transporte de colesterol inverso. La HDL_c (HDL_1) se encuentra en la sangre de animales con hipercolesterolemia inducida por la dieta. Es rica en colesterol y su única apolipoproteína es la apo E. Parece que todas las lipoproteínas del plasma son componentes interrelacionados de uno o más ciclos metabólicos que juntos son responsables del complejo proceso del transporte de lípidos en el plasma.

EL HÍGADO JUEGA UN PAPEL CENTRAL EN EL METABOLISMO Y EL TRANSPORTE DE LÍPIDOS

El hígado lleva a cabo las siguientes funciones principales en el metabolismo de los lípidos:

1. Facilitación de la digestión y absorción de lípidos mediante la producción de **bilis** (véase capítulo 26).
2. **Síntesis** activa **y oxidación de ácidos grasos** (véanse capítulos 22 y 23) y también la síntesis de triacilgliceroles y fosfolípidos (véase capítulo 24).
3. **Conversión de ácidos grasos en cuerpos cetónicos (cetogénesis)** (véase capítulo 22).
4. **Síntesis y metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas**.

La secreción de VLDL hepática está relacionada con el estado dietético y hormonal

Los eventos celulares implicados en la formación y secreción de VLDL hepática se muestran en la **figura 25-6.** El ensamblaje de VLDL requiere la síntesis de apo B-100 y una fuente de triacilglicerol. Apo B-100 se sintetiza en polirribosomas y se transloca al lumen del retículo endoplasmático (ER, *endoplasmic reticulum*) a medida que se forma. A medida que la proteína ingresa al lumen, se lipida con fosfolípido con la ayuda de la **proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal (MTP, *microsomal triacylglycerol transfer protein*)**, que también facilita la transferencia de triacilglicerol a través de la membrana del ER, y se forman partículas de **VLDL2** (o precursoras de VLDL) que contienen apo B. El triacilglicerol se deriva de la lipólisis de las gotas lipídicas de triacilglicerol citosólico seguido de la reesterificación en una ruta que requiere derivados fosfolípidos y diacilglicerol acil transferasas. El triacilglicerol no utilizado para la formación de VLDL1 se recicla a las gotas citosólicas. Después del ensamblaje en el ER, las VLDL2 se transportan en vesículas de proteína de recubrimiento II (COPII, *coat protein II*) (véase capítulo 49) al golgi, donde se fusionan con gotas de lípidos ricas en triacilglicerol para producir **VLDL1**. El ácido fosfatídico producido por la acción de la fosfolipasa D después de la activación por una pequeña proteína de unión a trifosfato de guanosina (GTP, *guanosine triphosphate*) llamada **factor-1 de ribosilación de ADP (ARF-1, *ADP-ribosylation factor-1*)** es necesaria para la formación de las partículas ricas en triacilglicerol y/o VLDL2. Aunque algunas partículas de VLDL2 pueden secretarse sin fusión, la mayoría de las partículas que salen de la célula están en forma de VLDL1. Estas VLDL nacientes adquieren luego apolipoproteínas C y E de HDL en la circulación para convertirse en VLDL maduras.

El triacilglicerol para la formación de VLDL se sintetiza a partir de los FFA. Los ácidos grasos utilizados proceden de dos fuentes posibles: 1) síntesis *de novo* en el hígado a partir de **acetil-CoA** derivada principalmente de carbohidratos (tal vez no tan importante

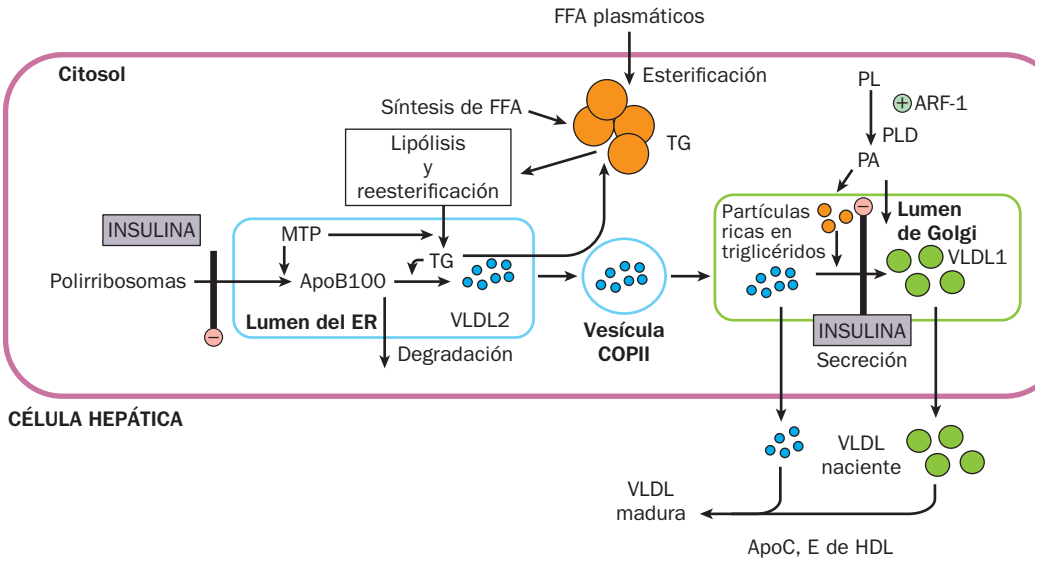


FIGURA 25-6 El ensamblaje de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en el hígado. (Apo: apolipoproteína; ARF-1: factor-1 de ribosilación de ADP; FFA: ácidos grasos libres; HDL: lipoproteínas de alta densidad; MTP: proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal; PA (*phosphatidic acid*): ácido fosfatídico; PL: fosfolípido; PLD (*phospholipase D*): fosfolipasa D; TG: triacilglicerol). Las rutas indicadas subyacen a los eventos representados en la figura 25-2. La apo B-100 se sintetiza en polirribosomas y se lipida con PL mediante MTP cuando ingresa en el lumen del ER. Cualquier exceso se degrada en proteosomas. El TG derivado de la lipólisis de las gotas lipídicas citosólicas seguida de la resíntesis se transfiere al lumen del ER con la ayuda de MTP e interactúa con apo B-100 formando VLDL2. El exceso de TG se recicla a las gotas lipídicas citosólicas. La VLDL2 se transloca al golgi en vesículas COPII donde estas se fusionan con partículas ricas en TG para formar VLDL1. El PA se produce mediante la activación de PLD por ARF-1 y se incorpora a VLDL1 y/o VLDL2 ricos en TG. Tanto VLDL1 como VLDL2 pueden secretarse en la sangre. La insulina inhibe la secreción de VLDL al inhibir la síntesis de apo B-100 y la formación de VLDL1 a partir de VLDL2.

en humanos) y 2) captura de **FFA** de la circulación. La primera fuente predomina en condiciones de buena alimentación, cuando la síntesis de ácidos grasos es alta y el nivel de FFA circulantes es bajo. Como el triacilglicerol no se acumula normalmente en el hígado en estas condiciones, debe inferirse que se transporta desde el hígado en VLDL tan rápidamente como se sintetiza. Los FFA de la circulación son la fuente principal durante la inanición, la alimentación con dietas ricas en grasas o en la diabetes mellitus, cuando se inhibe la lipogénesis hepática. Los factores que potencian tanto la síntesis de triacilglicerol como la secreción de VLDL por el hígado incluyen 1) el estado de alimentación en lugar del estado de inanición; 2) la alimentación con dietas altas en carbohidratos (particularmente si contienen sacarosa o fructosa), lo que conduce a altos niveles de lipogénesis y esterificación de ácidos grasos; 3) altos niveles de FFA circulante; 4) ingestión de etanol; y 5) la presencia de altas concentraciones de insulina y bajas concentraciones de glucagón, que mejoran la síntesis y la esterificación de ácidos grasos e inhiben su oxidación.

La insulina suprime la secreción hepática de VLDL inhibiendo la síntesis de apo B-100 y la conversión de la VLDL2 más pequeña en VLDL1 mediante la fusión con grandes cantidades de triacilglicerol. Algunos otros factores que se sabe que inhiben o previenen el ensamblaje de VLDL en el hígado incluyen el antibiótico brefeldin A, que inhibe la acción de ARF-1; el hipoglicemiante sulfonilurea, la tolbutamida, los **ácidos grasos ω3** de la dieta (véase capítulo 21) y el ácido orótico, un intermediario en la síntesis de pirimidinas (véase capítulo 33), que disminuyen la tasa de lipólisis de triacilglicerol; y un defecto en el gen *MTP*. La regulación de la formación de VLDL en el hígado es compleja e implica interacciones entre factores hormonales y dietéticos que todavía no se comprenden por completo.

ASPECTOS CLÍNICOS

El desequilibrio en la tasa de formación y exportación de triacilglicerol causa un hígado graso

Por diversas razones, los lípidos, principalmente como triacilglicerol, pueden acumularse en el hígado (figura 25-6). La acumulación amplia causa **hígado graso** y se considera como una condición patológica. La **enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD)** es el trastorno hepático más común en todo el mundo. Cuando la acumulación de lípidos en el hígado se vuelve crónica, pueden desarrollarse cambios inflamatorios y fibróticos que conducen a la **esteatohepatitis no alcohólica (NASH, *nonalcoholic steatohepatitis*)**, la cual puede progresar a enfermedades hepáticas que incluyen **cirrosis**, **hepatocarcinoma** e **insuficiencia hepática**.

Los hígados grasos se dividen en dos categorías principales. El primer tipo se asocia con **niveles elevados de ácidos grasos libres en plasma** que resultan de la movilización de grasa del tejido adiposo o de la hidrólisis de la lipoproteína triacilglicerol por la lipoproteína lipasa en tejidos extrahepáticos. La producción de VLDL no se mantiene al ritmo de la creciente afluencia y esterificación de los ácidos grasos libres, lo que permite la acumulación de triacilglicerol, que a su vez causa un hígado graso. Esto ocurre durante la **inanición** y la alimentación mediante **dietas elevadas en grasas**. La capacidad de secretar VLDL también puede verse afec-

tada (p. ej., en la inanición). En una situación incontrolada de diabetes mellitus, enfermedad del cordero gemelo y cetosis en el ganado vacuno la infiltración de grasa es lo suficientemente severa como para causar palidez visible (aspecto graso) y agrandamiento del hígado con posible disfunción hepática.

El segundo tipo de hígado graso se debe generalmente a un **bloqueo metabólico en la producción de lipoproteínas plasmáticas**, lo que permite que se acumule el triacilglicerol. Teóricamente, la lesión puede deberse a 1) un bloqueo en la síntesis de apolipoproteínas (o un aumento en su degradación antes de que pueda incorporarse en la VLDL), 2) un bloqueo en la síntesis de la lipoproteína del lípido y apolipoproteína, 3) una falla en el suministro de los fosfolípidos que se encuentran en las lipoproteínas, o 4) una falla en el mecanismo secretor en sí.

Un tipo de hígado graso que se ha estudiado extensamente en ratas es causado por una deficiencia de **colina**, el cual se ha denominado, por consiguiente, **factor lipotrópico**. El **ácido orótico** también causa hígado graso; se cree que interfiere con la glicosilación de VLDL, lo que inhibe la liberación, y también puede perjudicar el reclutamiento de triacilglicerol a las partículas. Una deficiencia de vitamina E aumenta la necrosis hepática del tipo de deficiencia de colina del hígado graso. La adición de vitamina E o una fuente de **selenio** tiene un efecto proactivo al combatir la peroxidación lipídica. Además de la deficiencia de proteínas, las deficiencias de ácidos grasos esenciales y vitaminas (p. ej., ácido linoleico, piridoxina y ácido pantoténico) pueden causar infiltración grasa del hígado.

El etanol también causa hígado graso

El **hígado graso alcohólico** es la primera etapa en **la enfermedad hepática alcohólica (ALD, *alcoholic liver disease*)** que es causada por el **alcoholismo** y, en última instancia, conduce a la **cirrosis**. La acumulación de grasa en el hígado es causada por una combinación de la alteración de la oxidación de ácidos grasos y del aumento de la lipogénesis, que se cree que se deba a cambios en el potencial redox [NADH]/[NAD^+] en el hígado y también a la interferencia con la acción de los factores de transcripción que regulan la expresión de las enzimas involucradas en las rutas. La oxidación del etanol por la **alcohol deshidrogenasa** conduce a un exceso de producción de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH, *nicotinamide adenine dinucleotide*) que compite con equivalentes reductores de otros sustratos, incluyendo los ácidos grasos, para la cadena respiratoria. Esto inhibe su oxidación y causa una mayor esterificación de los ácidos grasos para formar triacilglicerol, lo que resulta en el hígado graso. La oxidación del etanol conduce a la formación de acetaldehído, el cual es oxidado por la **aldehído deshidrogenasa**, produciendo acetato. El aumento en la relación (NADH)/(NAD^+) también causa aumento de (lactato)/(piruvato), lo que produce **hiperlacticacidemia**, que disminuye la excreción de ácido úrico, empeorando la **gota**.

Parte del metabolismo del etanol se produce a través de un sistema oxidante microsómico de etanol (MEOS, *microsomal ethanol oxidizing system*) dependiente del citocromo P450 que implica nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) y O_2. Este sistema aumenta la actividad en el **alcoholismo crónico** y puede explicar el aumento del aclaramiento metabólico del etanol en esta condición, pero también puede estimular el desarrollo de ALD. El etanol también inhibe el metabolismo de algunos fármacos, por ejemplo, los barbitúricos, compitiendo por las enzimas dependientes del citocromo P450.

En algunas poblaciones asiáticas y nativo americanas, el consumo de alcohol provoca un aumento de las reacciones adversas al acetaldehído debido a un defecto genético de la aldehído deshidrogenasa mitocondrial.

EL TEJIDO ADIPOSO ES LA RESERVA PRINCIPAL DE TRIACILGLICEROL EN EL CUERPO

Los triacilgliceroles se almacenan en el tejido adiposo en grandes gotas de lípidos y se someten continuamente a lipólisis (hidrólisis) y reesterificación. Estos dos procesos son rutas completamente diferentes que implican diferentes reactivos y enzimas. Esto permite que los procesos de esterificación o lipólisis se regulen por separado mediante muchos factores nutricionales, metabólicos y hormonales. El equilibrio entre estos dos procesos determina la magnitud del conjunto de FFA en el tejido adiposo, que a su vez determina el nivel de FFA que circula en el plasma. Dado que este último tiene efectos más profundos en el metabolismo de otros tejidos, particularmente el hígado y el músculo, los factores que operan en el tejido adiposo y que regulan la salida de FFA ejercen una influencia mucho más allá del propio tejido. Además, desde el descubrimiento en los últimos 20 años de que el tejido adiposo secreta hormonas como la **leptina** y la **adiponectina**, conocidas como **adipocinas**, se ha reconocido su papel como órgano endocrino. La leptina regula la homeostasis energética al estimular el uso de energía y limitar la ingesta de alimentos. Si se carece de esta, la ingesta de alimentos se puede descontrolar, causando obesidad. La adiponectina modula el metabolismo de la glucosa y los lípidos en el músculo y el hígado, y mejora la sensibilidad de los tejidos a la insulina.

El suministro de glicerol-3-fosfato regula la esterificación: la lipólisis está controlada por la lipasa sensible a las hormonas

El triacilglicerol se sintetiza a partir de acil-CoA y glicerol-3-fosfato (véase figura 24-2). Dado que la enzima **glicerol quinasa** no se expresa en el tejido adiposo, el glicerol no se puede utilizar para el suministro de glicerol-3-fosfato, que debe suministrarse a partir de la glucosa a través de la glucólisis (**figura 25-7**).

El triacilglicerol se hidroliza mediante una **lipasa sensible a las hormonas** para formar FFA y glicerol. Esta lipasa es distinta de la lipoproteína lipasa, que cataliza la hidrólisis de las lipoproteínas triacilglicerol antes de su captura en los tejidos extrahepáticos (véase más arriba). Como el glicerol no se puede utilizar, entra en la sangre y se absorbe y se transporta a tejidos como el hígado y el riñón, que poseen una glicerol quinasa activa. Los FFA formados por la lipólisis pueden reconvertirse en el tejido adiposo a acil-CoA por la **acil-CoA sintetasa** y reesterificarse con glicerol-3-fosfato para formar triacilglicerol. Por tanto, **existe un ciclo continuo de lipólisis y reesterificación dentro del tejido** (figura 25-7). Sin embargo, cuando la velocidad de la reesterificación no es suficiente para igualar la velocidad de la lipólisis, los FFA se acumulan y se difunden en el plasma, donde se unen a la albúmina y aumentan la concentración de ácidos grasos libres en plasma.

El aumento del metabolismo de la glucosa reduce la producción de FFA

Cuando se incrementa la utilización de glucosa por el tejido adiposo, el flujo de salida de FFA disminuye. Sin embargo, la liberación

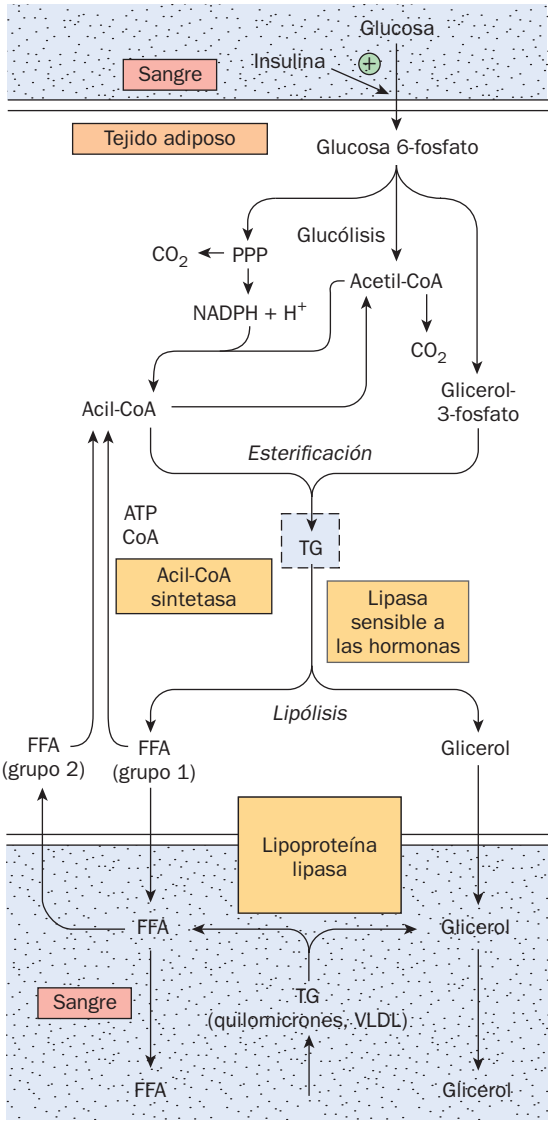


FIGURA 25-7 Metabolismo de triacilglicerol en el tejido adiposo. La lipasa sensible a hormonas se activa por ACTH, TSH, glucagón, epinefrina, norepinefrina y vasopresina y se inhibe por insulina, prostaglandina E_1 y ácido nicotínico. Los detalles de la formación de glicerol-3-fosfato a partir de intermediarios de la glucólisis se muestran en la figura 24-2. (FFA: ácidos grasos libres; PPP (*pentose phosphate pathway*)1: *ruta de la pentosa fosfato; TG: triacilglicerol; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad).*

de glicerol continúa, lo que demuestra que el efecto de la glucosa no está mediado por la reducción de la velocidad de la lipólisis. El efecto se debe al suministro de glicerol-3-fosfato, que potencia la esterificación de FFA. La glucosa puede tomar varias rutas en el tejido adiposo, incluyendo la oxidación a CO_2 a través del ciclo del ácido cítrico, la oxidación en la ruta de la pentosa fosfato, la conversión a ácidos grasos de cadena larga y la formación de acilglicerol a través del glicerol-3-fosfato (figura 25-7). Cuando la utilización de la glucosa es alta, una mayor proporción de la captura se oxida a CO_2 y se convierte en ácidos grasos. Sin embargo, a medida que disminuye la utilización total de glucosa, la mayor proporción de glucosa se dirige a la formación de glicerol-3-fosfato para la esterificación de acil-CoA, lo que ayuda a minimizar la salida de FFA.

LAS HORMONAS REGULAN LA MOVILIZACIÓN DE LA GRASA

La lipólisis del tejido adiposo está inhibida por la insulina

La velocidad de liberación de FFA del tejido adiposo se ve afectada por muchas hormonas que influyen en la velocidad de esterificación o en la velocidad de la lipólisis. La **insulina** inhibe la liberación de FFA del tejido adiposo, lo que resulta en una disminución de los ácidos grasos libres circulantes en plasma. La insulina también mejora la lipogénesis y la síntesis de acilglicerol y aumenta la oxidación de glucosa a CO_2 a través de la ruta de la pentosa fosfato. Todos estos efectos dependen de la presencia de la glucosa y pueden explicarse, en gran medida, sobre la base de la capacidad de la insulina para mejorar la captura de glucosa en células adiposas a través del **transportador GLUT 4**. Además, la insulina aumenta la actividad de las enzimas piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa y glicerol fosfato aciltransferasa, lo que refuerza los efectos del aumento de la captura de glucosa sobre la potenciación de la síntesis de ácidos grasos y acilglicerol. Estas tres enzimas están reguladas de forma coordinada por los mecanismos de fosforilación-desfosforilación (véanse capítulos 17, 23 y 24).

Otra acción principal de la insulina en el tejido adiposo es la inhibición de la actividad de la **lipasa sensible a hormonas**, reduciendo la liberación no sólo de FFA sino también de glicerol. El tejido adiposo es mucho más sensible a la insulina que muchos otros tejidos y, por tanto, es un sitio importante de acción de la insulina *in vivo*.

Varias hormonas estimulan la lipólisis

Otras hormonas aceleran la liberación de FFA del tejido adiposo y elevan la concentración de ácido graso libre en plasma al aumentar la velocidad de lipólisis de las reservas de triacilglicerol (**figura 25-8**). Estas incluyen **epinefrina**, **norepinefrina**, **glucagón**, **hormona adrenocorticotrópica (ACTH,** ***adrenocorticotropic hormone*****)**, **hormonas estimuladoras de melanocitos α y β (MSH,** ***melanocyte-stimulating hormones*****)**, **hormona estimulante de la tiroides (TSH,** ***thyroid-stimulating hormone*****)**, **hormona del crecimiento (GH,** ***growth hormone*****)** y **vasopresina**. Muchas de estas activan la lipasa sensible a las hormonas. Para un efecto óptimo, la mayoría de estos procesos lipolíticos requieren la presencia de **glucocorticoides** y **hormonas tiroideas**. Estas hormonas actúan con una capacidad **facilitadora** o **permisiva** con respecto a otros factores endocrinos lipolíticos.

Las hormonas que actúan rápidamente en la estimulación de la lipólisis, es decir, las catecolaminas (epinefrina y norepinefrina), lo hacen al estimular la actividad de la **adenilil ciclasa**, la enzima que convierte el ATP en adenosín monofosfato cíclico (cAMP, *cyclic monophosphate adenosine*). El mecanismo es análogo a aquel responsable de la estimulación hormonal de la glucogenólisis (véase capítulo 18). El cAMP, al estimular la proteína quinasa dependiente de cAMP, activa la lipasa sensible a las hormonas. Por tanto, los procesos que destruyen o conservan cAMP influyen en la lipólisis. El cAMP se degrada a 5'-AMP por la enzima **3', 5'-nucleótido cíclico fosfodiesterasa**. Esta enzima es inhibida por las metilxantinas, co-

mo la **cafeína** y la **teofilina**. La **insulina** antagoniza el efecto de las hormonas lipolíticas. La lipólisis parece ser más sensible a los cambios en la concentración de insulina que la utilización de glucosa y la esterificación. Los efectos antilipolíticos de la insulina, el ácido nicotínico y la prostaglandina E_1 se explican por la inhibición de la síntesis de cAMP en el sitio de la adenilil ciclasa, que actúa a través de una proteína G_i. La insulina también estimula la fosfodiesterasa y la lipasa fosfatasa que inactiva la lipasa sensible a las hormonas. El efecto de la hormona del crecimiento en la estimulación de la lipólisis depende de la síntesis de proteínas involucradas en la formación de cAMP. Los glucocorticoides estimulan la lipólisis a través de la síntesis de una nueva proteína lipasa mediante una ruta independiente de cAMP, que puede ser inhibida por la insulina, y también mediante la estimulación de la transcripción de los genes implicados en la cascada de señal de cAMP. Estos hallazgos ayudan a explicar el papel de la glándula hipofisiaria y la corteza suprarrenal en la mejora de la movilización de la grasa. El sistema nervioso simpático, a través de la liberación de norepinefrina en el tejido adiposo, desempeña un papel central en la movilización de FFA. Por tanto, el aumento de la lipólisis causado por muchos de los factores descritos anteriormente puede reducirse o eliminarse por denervación del tejido adiposo o por bloqueo ganglionar.

La perilipina regula el equilibrio entre el almacenamiento de triacilglicerol y la lipólisis en los adipocitos

La **perilipina**, una proteína implicada en la formación de gotas de lípido en los adipocitos, inhibe la lipólisis en condiciones basales al impedir el acceso de las enzimas lipasas a los triacilgliceroles almacenados. Sin embargo, en la estimulación con hormonas que estimulan la degradación de triacilglicerol, la proteína se fosforila y cambia su conformación, exponiendo la superficie de la gota de lípido a la lipasa sensible a hormonas y promoviendo así la lipólisis. Por tanto, la perilipina permite que el almacenamiento y la descomposición del triacilglicerol se coordinen de acuerdo con las necesidades metabólicas del cuerpo.

Puede que el tejido adiposo humano no sea un sitio importante de lipogénesis

En el tejido adiposo, no hay una incorporación significativa de glucocosa o piruvato en los ácidos grasos de cadena larga, la ATP-citrato liasa, una enzima clave en la lipogénesis, no parece estar presente, y otras enzimas lipogénicas, por ejemplo, glucosa-6-fosfato

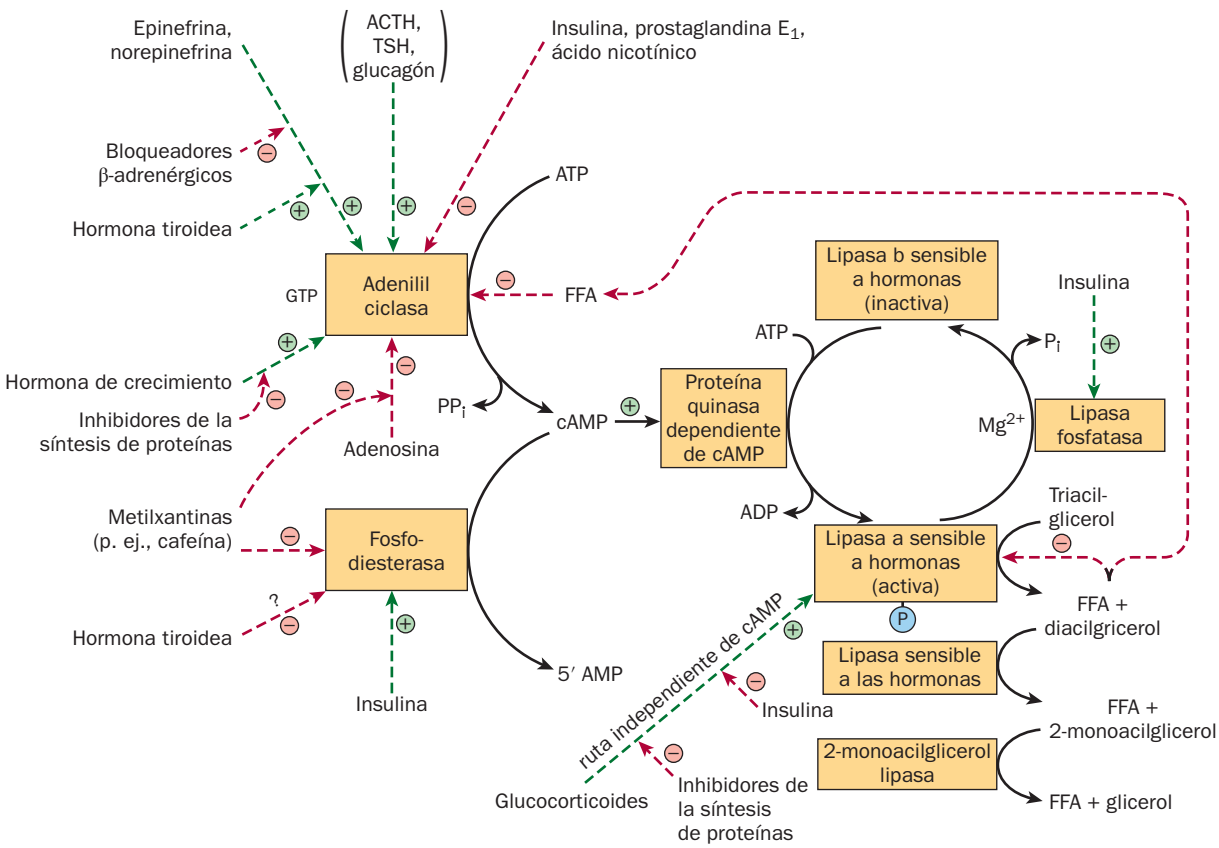


FIGURA 25-8 **Control de la lipólisis del tejido adiposo.** (ACTH, hormona adrenocorticotropina; FFA, ácidos grasos libres; TSH, hormona estimulante de la tiroides). La secuencia de reacciones en cascada permite la amplificación en cada paso. El estímulo lipolítico se "desconecta" mediante la eliminación de la hormona estimulante; la acción de la lipasa fosfatasa; la inhibición de la lipasa y la adenilil ciclasa por altas concentraciones de FFA; la inhibición de adenilil ciclasa por la adenosina; y la eliminación de cAMP por la acción de la fosfodiesterasa. La ACTH, la TSH y el glucagón puede que no activen la adenilil ciclasa *in vivo* ya que la concentración de cada hormona requerida *in vitro* es mucho más alta que la que se encuentra en la circulación. Los efectos reguladores positivos (⊕) y negativos (⊖) están representados por líneas discontinuas y el flujo de sustrato por líneas continuas.

deshidrogenasa y la enzima málica, no sufren cambios adaptativos. De hecho, se ha sugerido que en los humanos existe un **"síndrome de exceso de carbohidrato"** debido a una limitación única en la capacidad de eliminar el exceso de carbohidrato mediante la lipogénesis. En las aves, la lipogénesis está confinada al hígado, donde es particularmente importante en el suministro de lípidos para la formación de huevos, estimulada por los estrógenos.

EL TEJIDO ADIPOSO PARDO PROMUEVE LA TERMOGÉNESIS

El tejido adiposo marrón (BAT, *brown adipose tissue*) es una forma especializada de tejido adiposo involucrada en el metabolismo y en la **termogénesis** (generación de calor). Por tanto, es extremadamente activo en algunas especies, por ejemplo, durante el despertar de la hibernación, en animales expuestos al frío (termogénesis sin escalofríos) y en la producción de calor en el recién nacido. Aunque no es un tejido prominente en humanos, está presente en individuos normales. El BAT se caracteriza por un suministro de sangre bien desarrollado y un alto contenido de mitocondrias y citocromos, pero baja actividad de la ATP sintasa. El énfasis metabólico se centra en la oxidación tanto de la glucosa como de los ácidos grasos. La **norepinefrina** liberada de las terminaciones nerviosas simpáticas es importante en el aumento de la lipólisis en el tejido y de la síntesis de la lipoproteína lipasa para mejorar la utilización de las lipoproteínas ricas en triacilglicerol de la circulación. La oxidación y la fosforilación no están acopladas en las mitocondrias de este tejido debido a la presencia de una proteína de desacoplamiento termogénica, la termogenina (también llamada proteína de desacoplamiento 1 [UCP1, *uncoupling protein 1*]) y la fosforilación que ocurre es a nivel de sustrato, por ejemplo, en el paso de succinato tioquinasa y en la glucólisis. Por tanto, **la oxidación produce mucho calor y queda atrapada poca energía libre en el ATP**. La **termogenina** actúa como una ruta de conductancia de protones que disipa el potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial (**figura 25-9**). Investigaciones recientes han demostrado que la actividad del BAT está inversamente relacionada con el contenido de grasa corporal, y por tanto es un objetivo potencial para el tratamiento de la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados.

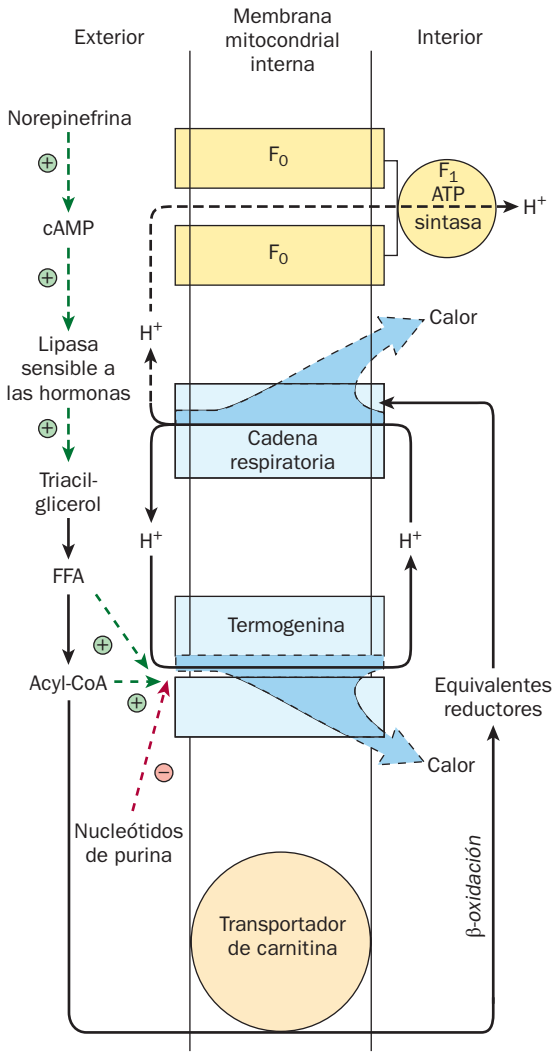


FIGURA 25-9 Termogénesis en el tejido adiposo marrón. La actividad de la cadena respiratoria da como resultado la translocación de protones de la matriz mitocondrial al espacio intermembrana (véase figura 13-7). La presencia de termogenina (UCP1) en el tejido adiposo marrón permite que los protones vuelvan a la matriz sin pasar por la F_1 ATP sintasa y la energía generada se disipa en forma de calor en lugar de ser capturada como ATP. El paso de H^+ a través de la termogenina es inhibido por los nucleótidos de purina cuando el tejido adiposo marrón no está estimulado. Bajo la influencia de la norepinefrina, la inhibición se elimina mediante la producción de ácidos grasos libres (FFA) y acil-CoA. Nótese el doble papel de la acil-CoA en la facilitación de la acción de la termogenina y en el suministro de equivalentes reductores para la cadena respiratoria. ⊕ y ⊖ significan efectos reguladores positivos o negativos.

RESUMEN

- Como los lípidos no polares son insolubles en agua, se combinan con lípidos anfipáticos y proteínas para formar lipoproteínas miscibles en agua para el transporte entre los tejidos en el plasma sanguíneo acuoso.
- Se reconocen cuatro grupos principales de lipoproteínas. Los quilomicrones transportan lípidos como resultado de la digestión y la absorción. VLDL transportan triacilglicerol del hígado. LDL distribuyen colesterol a los tejidos y HDL eliminan el colesterol de los tejidos y lo devuelven al hígado para su excreción en el proceso conocido como transporte de colesterol inverso.
- Los quilomicrones y VLDL se metabolizan por la hidrólisis de su triacilglicerol, dejando restos de lipoproteína en la circulación. Estos son absorbidos por el hígado, pero algunos de los restos (IDL) resultantes de la forma LDL de VLDL son absorbidos por el hígado y otros tejidos a través del receptor de LDL.
- Las apolipoproteínas constituyen el resto proteico de las lipoproteínas. Actúan como activadores enzimáticos (p. ej., apo C-II y apo A-I) o como ligandos para receptores celulares (p. ej., apo A-I, apo E y apo B-100).
- El triacilglicerol es el lípido de almacenamiento principal en el tejido adiposo. Tras la movilización, se liberan FFA y glicerol. Los FFA son una importante fuente de combustible.

- El tejido adiposo marrón es el sitio de la "termogénesis sin escalofríos". Se encuentra en animales hibernadores y recién nacidos y está presente en humanos adultos. La termogénesis es resultado de la presencia de UCP1, termogenina, en la membrana mitocondrial interna.

REFERENCIAS

Eljamil AS. *Lipid Biochemistry: For Medical Sciences*. iUniverse; 2015.

Francis G. High density lipoproteins: metabolism and protective roles against atherosclerosis. In Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6a. ed. Academic Press; 2015:437-459.

McLeod RS, Yao Z: Assembly and secretion of triacylglycerol-rich lipoproteins. In Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6a. ed. Academic Press; 2015:460-488.

CAPÍTULO

26

Síntesis, transporte y excreción del colesterol

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar la importancia del colesterol como un componente estructural esencial de las membranas celulares y como un precursor de todos los otros esteroides en el cuerpo, e indicar su papel patológico en la enfermedad de cálculos biliares del colesterol y el desarrollo de aterosclerosis.
- Identificar las cinco etapas en la biosíntesis de colesterol a partir de acetil-CoA.
- Indicar el papel de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa, *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase*) para controlar la tasa de síntesis de colesterol y explicar los mecanismos por los cuales se regula su actividad.
- Explicar que el equilibrio del colesterol en las células está estrictamente regulado e indicar los factores que intervienen en mantener el equilibrio correcto.
- Explicar el papel de las lipoproteínas plasmáticas, incluidos los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, *very-low-density lipoprotein*), las lipoproteínas de baja densidad (LDL, *low-density lipoprotein*) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL, *high-density lipoprotein*) en el transporte de colesterol entre los tejidos del plasma.
- Nombrar los dos principales ácidos biliares primarios que se encuentran en los mamíferos, describir las vías por las cuales se sintetizan a partir del colesterol en el hígado.
- Explicar la importancia de la síntesis de ácidos biliares no sólo en la digestión y absorción de grasas, sino también como una ruta excretora importante para el colesterol.
- Indicar cómo se producen los ácidos biliares secundarios a partir de la acción de las bacterias intestinales sobre los ácidos biliares primarios.
- Explicar qué se entiende por "circulación enterohepática" y por qué es importante.
- Identificar los diversos factores relacionados con las concentraciones de colesterol en plasma que afectan el riesgo de enfermedad coronaria, incluidos la dieta, el estilo de vida y la clase de lipoproteína en la que se transporta.
- Ejemplificar afecciones hereditarias y no hereditarias que inciden sobre el metabolismo de las lipoproteínas que causan hipo o hiperlipoproteinemia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El **colesterol** está presente en los tejidos y en el plasma, ya sea como colesterol libre o combinado con un ácido graso de cadena larga como el colesteril éster, su forma de almacenamiento. En plasma, ambas formas son transportadas en lipoproteínas (véase capítulo 25). El colesterol es un lípido anfipático y, como tal, es un componente estructural esencial de la capa externa de las lipoproteínas del plasma y de las membranas, donde es importante para el mantenimiento de su fluidez y permeabilidad correctas. Se sintetiza en muchos tejidos a partir de acetil-CoA y es el precursor de todos los demás esteroides en el cuerpo, incluidos **los corticosteroi-**

des, **las hormonas sexuales**, **los ácidos biliares** y **la vitamina D**. Como producto típico del metabolismo animal, el colesterol se encuentra en alimentos de origen animal como la yema de huevo, la carne, el hígado y el cerebro. La lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática es el vehículo que suministra colesterol y colesteril éster a muchos tejidos. El colesterol libre se elimina de los tejidos mediante la lipoproteína de alta densidad (HDL) del plasma y se transporta al hígado, donde se elimina del cuerpo sin cambios o después de la conversión a ácidos biliares en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (véase capítulo 25). El colesterol es un componente principal de los **cálculos biliares**. Sin embargo, su papel principal en los procesos patológicos es como un factor en el desarrollo de la **arteriosclerosis** de las arterias vitales, que causa enfermedad vascular cerebral, coronaria y vascular periférica.

EL COLESTEROL ES BIOSINTETIZADO A PARTIR DE ACETIL-COA

Un poco más de la mitad del colesterol del cuerpo surge por síntesis (alrededor de 700 mg/día), y el resto lo proporciona la dieta promedio. El hígado y el intestino representan casi 10% de la síntesis total en humanos. Prácticamente todos los tejidos que contienen células nucleadas son capaces de sintetizar el colesterol, que se produce en el retículo endoplásmico y en los compartimientos citosólicos.

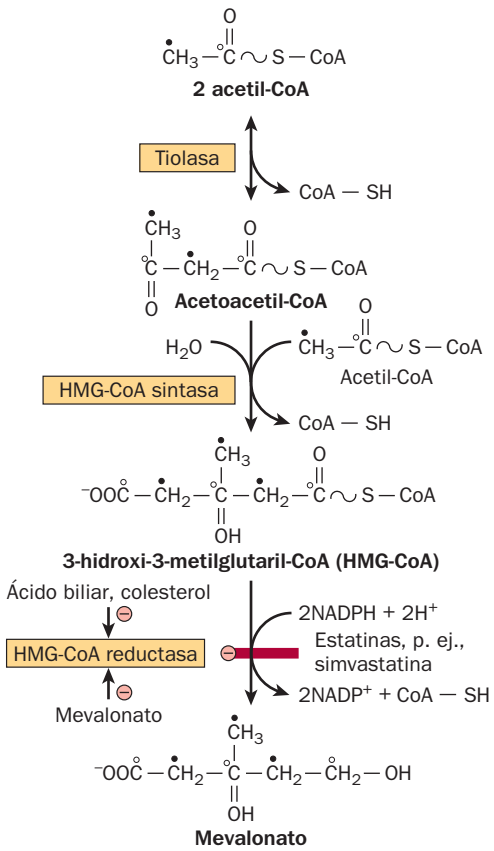


FIGURA 26-1 **La biosíntesis de mevalonato**. La HMG-CoA reductasa es inhibida por las estatinas. Los círculos abiertos y sólidos indican el destino de cada uno de los carbonos en la mitad acetilo del acetil-CoA.

El acetil-CoA es la fuente de todos los átomos de carbono en el colesterol

El colesterol es un compuesto de 27 carbonos que consta de cuatro anillos y una cadena lateral (véase figura 21-19). Se sintetiza a partir de acetil-CoA por una vía larga que se puede dividir en cinco pasos: 1) la síntesis de **mevalonato** a partir de acetil-CoA (**figura 26-1**); 2) la formación de **unidades isoprenoides** a partir de mevalonato por pérdida de CO_2 (**figura 26-2**); 3) la condensación de seis unidades de isoprenoides para formar **escualeno** (figura 26-2); 4) la ciclización de escualeno, que da lugar al esteroide madre, **lanosterol**; 5) la formación de colesterol a partir de lanosterol (**figura 26-3**).

Paso 1: Biosíntesis de Mevalonato: HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA) se forma a partir de las reacciones que ocurren en las mitocondrias con el fin de sintetizar cuerpos cetónicos (véase figura 22-7). Sin embargo, dado que la síntesis de colesterol es extramitocondrial, las dos vías son distintas. Inicialmente, dos moléculas de acetil-CoA se condensan para formar acetoacetil-CoA catalizada por **tiolasa** citosólica. El acetoacetil-CoA se condensa con una molécula adicional de acetil-CoA catalizada por **HMGCoA sintasa** para formar HMG-CoA, la cual se reduce a **mevalonato** por NADPH en una reacción catalizada por **HMG-CoA reductasa**. Este último es el principal paso regulador en la vía de la síntesis del colesterol y es el sitio de acción de la clase más efectiva de medicamentos para reducir el colesterol, las estatinas, que son inhibidores de la HMG-CoA reductasa (figura 26-1).

Paso 2: Formación de unidades isoprenoides: el ATP fosforila de modo secuencial el mevalonato mediante tres quinasas, luego de la descarboxilación (figura 26-2), se forma la unidad isoprenoide activa, el **isopentenil difosfato**.

Paso 3: Seis unidades isoprenoides forman escualeno: El isopentenildifosfato se isomeriza mediante un desplazamiento de doble enlace para formar **dimetilalil difosfato** y luego se condensa con otra molécula de isopentenildifosfato para formar el intermedio de 10-carbono **geranil difosfato** (figura 26-2). Una condensación adicional con difosfato de isopentenilo forma **farnesil difosfato**. Dos moléculas de farnesil difosfato se condensan en el extremo del difosfato para formar **escualeno**. De manera inicial, se elimina el pirofosfato inorgánico, formando el difosfato de preescualeno, que luego se reduce mediante NADPH con la eliminación de una molécula de pirofosfato inorgánico adicional.

Paso 4: Formación de lanosterol: el escualeno puede plegarse en una estructura que se parece mucho al núcleo esteroideo (figura 26-3). Antes de que se produzca el cierre del anillo, el escualeno se convierte en 2,3-epóxido de escualeno mediante una oxidasa de función mixta en el retículo endoplásmico, **escualeno epoxidasa**. El grupo metilo en C_{14} se transfiere a C_{13} y el de C_8 se transfiere a C_{14} a medida que se produce la ciclización, catalizada por **oxidoescualeno-lanosterol ciclasa**.

Paso 5: Formación de colesterol: la formación de colesterol a partir del **lanosterol** tiene lugar en las membranas del retículo endoplásmico e implica cambios en el núcleo esteroideo y en la cadena lateral (figura 26-3). Los grupos metilo se eliminan en C_{14} y C_4 para formar 14-desmetil lanosterol y luego zimosterol. El doble enlace en C_8-C_9 se mueve posteriormente a C_5-C_6 en dos pasos, formando **desmosterol**. Finalmente, se reduce el doble enlace de la cadena lateral, produciendo colesterol.

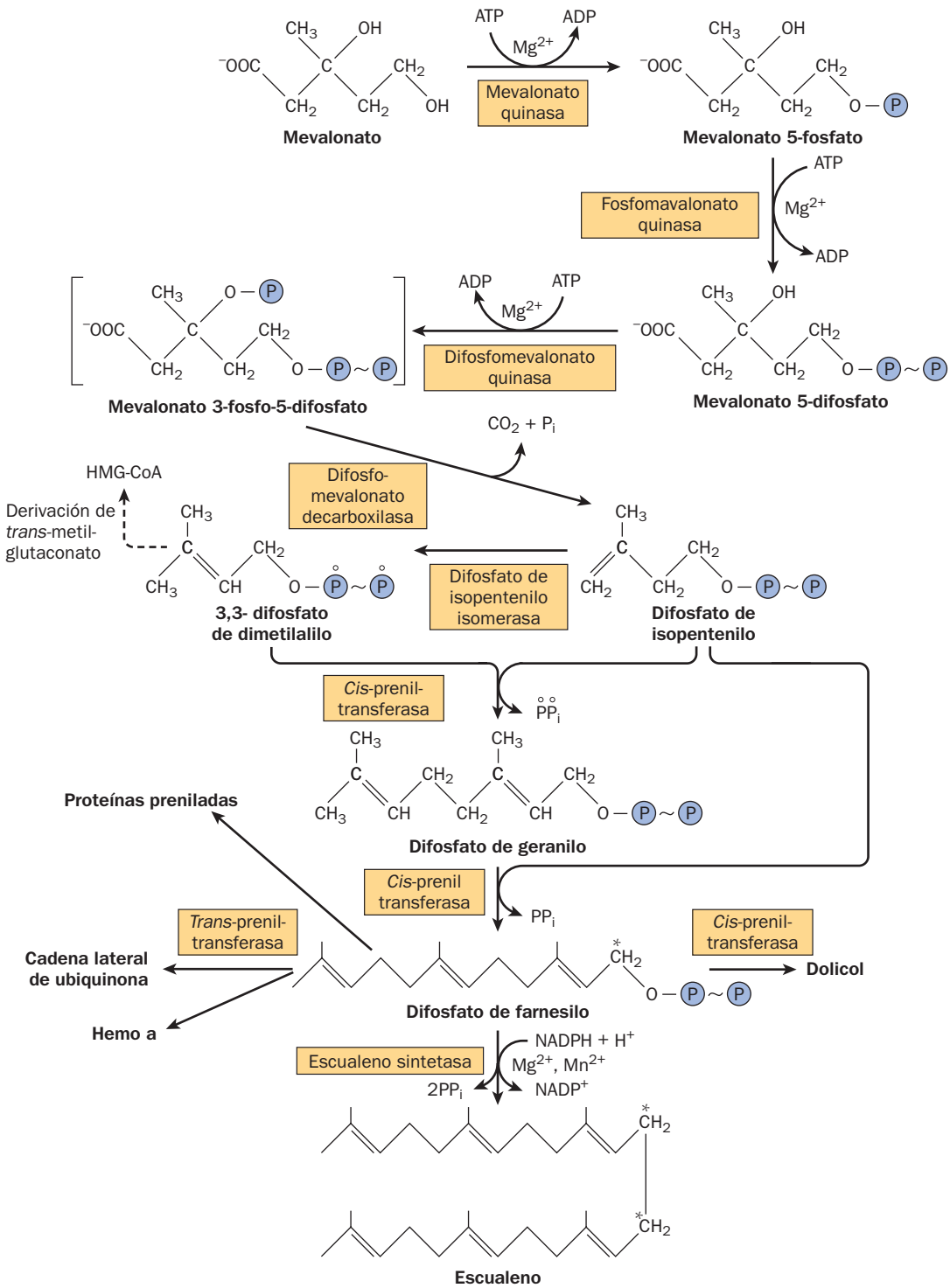


FIGURA 26-2 Biosíntesis de escualeno, ubiquinona, dolicol y otros derivados de poliisopreno (HMG, 3-hidroxi-3-metilglutarilo). Un residuo de farnesilo está presente en el grupo hem de la citocromooxidasa. El carbono marcado con un asterisco se convierte en C_{11} o C_{12} en escualeno. La escualenosintetasa es una enzima microsómica; todas las otras enzimas indicadas son proteínas citosólicas solubles, y algunas se encuentran en peroxisomas.

El farnesil difosfato aumenta a dolicol y ubiquinona

Los poliisoprenoides, el **dolicol** (véanse figura 21-22 y capítulo 46) y la **ubiquinona** (véase figura 13-6) se forman a partir de farnesil difosfato mediante otra adición de hasta 16 (dolicol) o de 3 a 7 (ubiquinona), residuos de isopentenil difosfato (véase figura 26-2). Algunas proteínas de unión a GTP en la membrana celular están preniladas con farnesilo o residuos de geranilgeranil (20 carbonos). Se cree que la **prenilación de proteínas** facilita el anclaje de las pro-

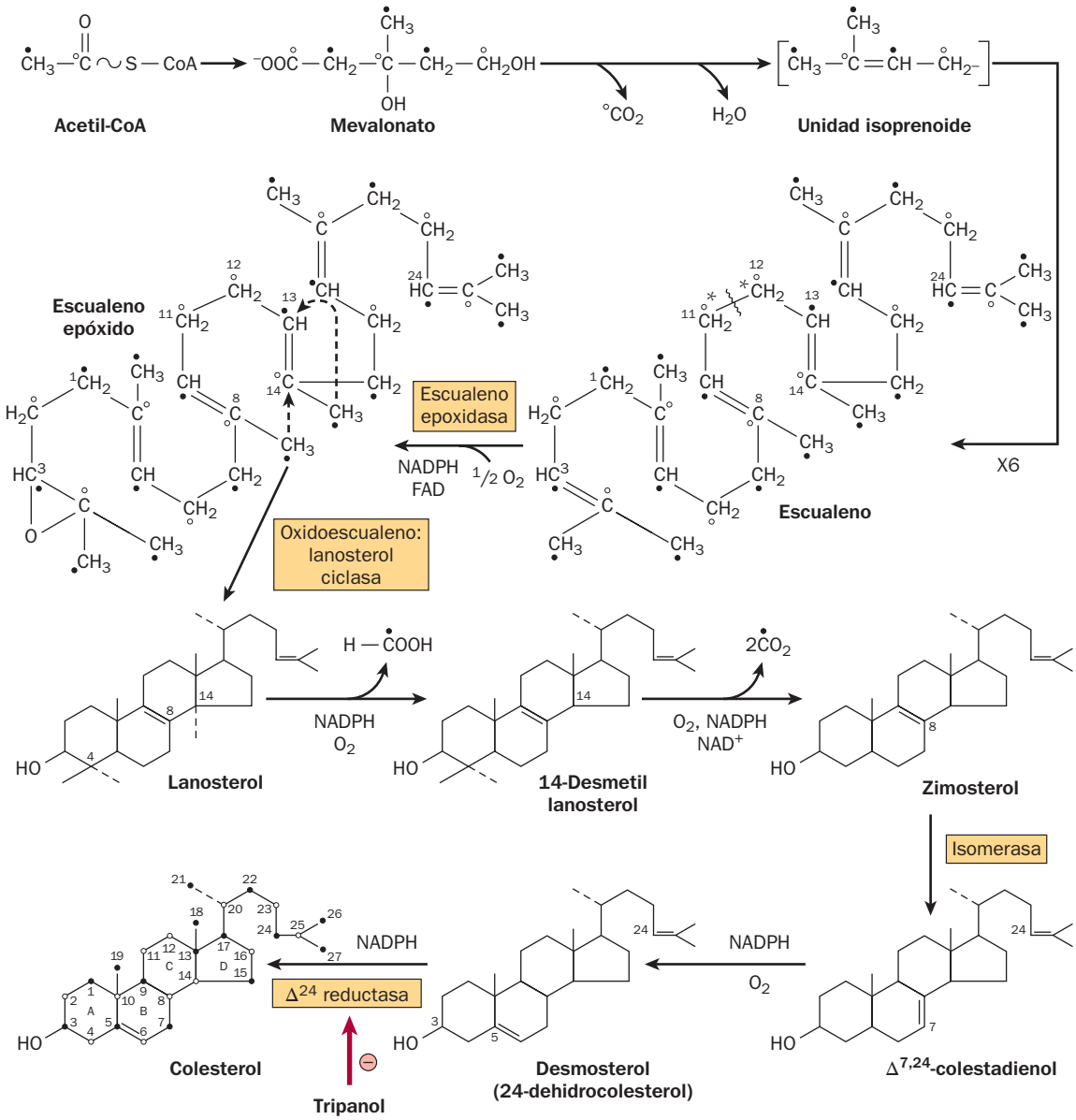


FIGURA 26-3 **La biosíntesis de colesterol**. Las posiciones numeradas son las del núcleo de los esteroides, y los círculos abiertos y sólidos indican el destino de cada uno de los carbonos en el grupo acetilo de la acetil-CoA. (* Consulte el marcado del escualeno en la figura 26-2).

teínas en las membranas lipoides y también que puede estar involucrada en las interacciones proteína-proteína y el tráfico de proteínas asociadas a la membrana.

LA SÍNTESIS DE COLESTEROL ESTÁ CONTROLADA POR LA REGULACIÓN DE HMG-COA REDUCTASA

La síntesis de colesterol está estrechamente controlada por la regulación en la etapa de HMG-CoA reductasa. La actividad de la enzima es inhibida por el mevalonato, el producto inmediato de la reacción, y por el colesterol, el producto principal de la vía. Por tanto, un mayor consumo de colesterol en la dieta conduce a una disminución en la síntesis *por primera vez*, especialmente en el hígado. Los mecanismos reguladores incluyen tanto la modulación de la síntesis de la proteína enzimática como la modificación postraduccional. El colesterol y los metabolitos reprimen la transcripción del mRNA de HMG-CoA reductasa mediante la inhibición del factor de transcripción de la **proteína que se une a elementos reguladores de esterol** (**SREBP,** *sterol regulatory element-binding protein*). Los SREBP son una familia de proteínas que regula la transcripción de una variedad de genes implicados en la captación celular y el metabolismo del colesterol y otros lípidos. La activación de SREBP es inhibida por el gen inducido por la insulina (**Insig**, *insulin induced gene*), una proteína cuya expresión, como su nombre lo indica, es ser inducida por la insulina y encontrarse en el retículo endoplásmico. La Insig también promueve la degradación de HMG-CoA

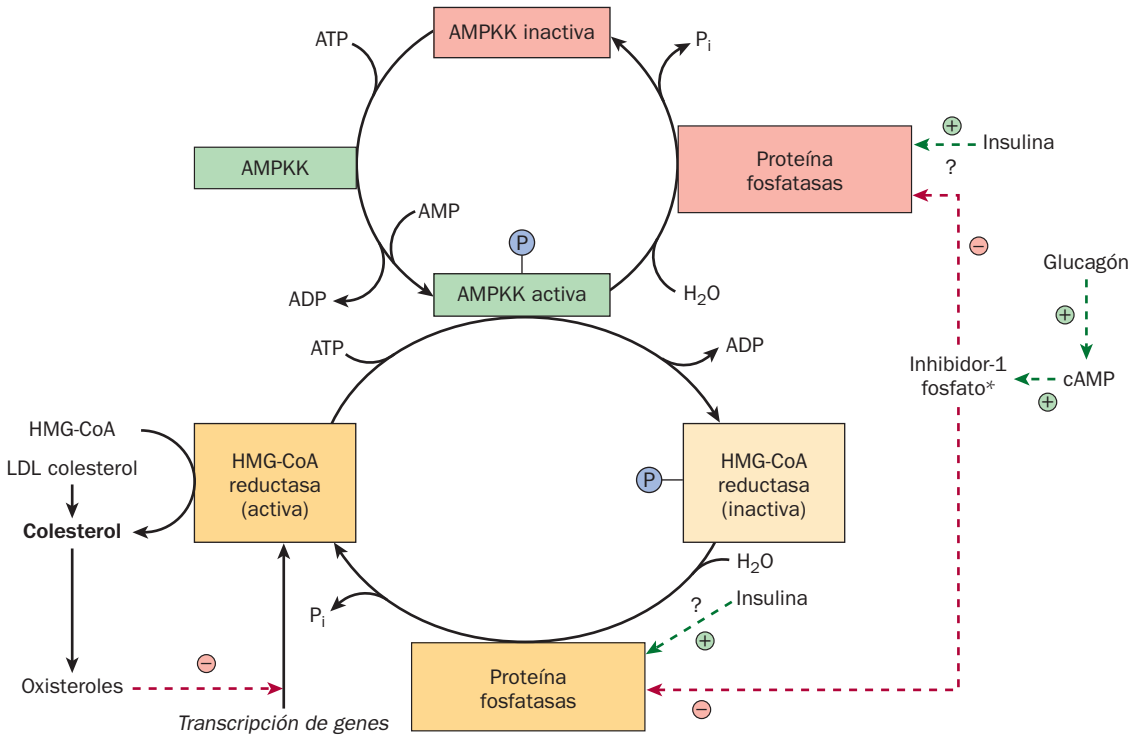


FIGURA 26-4 Posibles mecanismos postraduccionales en la regulación de la síntesis de colesterol por HMG-CoA reductasa. La insulina tiene el papel dominante en comparación con el glucagón. (AMPK: proteína quinasa activada por AMP; AMPKK: quinasa de la proteína quinasa activada por AMP). *Véase figura 18-6.

reductasa. Se produce una **variación diurna** tanto en la síntesis de colesterol como en la actividad de la reductasa. Los cambios a corto plazo en la actividad de la enzima, sin embargo, se producen por modificación postraduccional (**figura 26-4**). **La insulina** o **la hormona tiroidea** aumentan la actividad de la HMG-CoA reductasa, mientras que el glucagón o los glucocorticoides la disminuyen. La actividad se modifica de forma reversible por los mecanismos de fosforilación-defosforilación, algunos de los cuales pueden ser dependientes de cAMP y, por tanto, de respuesta inmediata al glucagón. La **proteína quinasa activada por AMP (AMPK,** *AMP-activated protein kinase*) (antes llamada HM-CoA reductasa quinasa) fosforila e inactiva la HMG-CoA reductasa. La AMPK se activa a través de la fosforilación por la **quinasa de la AMPK** (AMPKK, *AMPK kinase*), y a través de la modificación alostérica por AMP.

MUCHOS FACTORES INFLUYEN EN EL BALANCE DEL COLESTEROL EN LOS TEJIDOS

En los tejidos, el equilibrio del colesterol se regula de la siguiente manera (**figura 26-5**): el incremento de colesterol en las células se debe a la captación de lipoproteínas que contienen colesterol por receptores, por ejemplo, el receptor de LDL o el receptor recolector como el CD36; a la captación de colesterol libre desde lipoproteínas con alto contenido de colesterol hacia la membrana celular, la síntesis de colesterol e hidrólisis de colesteril ésteres por la enzima colesteril éster hidrolasa. La disminución se debe al flujo de salida de colesterol desde la membrana hacia HDL por medio de ABCA1, ABCG1 o SR-B1 (véase figura 25-5); la esterificación de colesterol por ACAT (acil-CoA: colesterolaciltransferasa), y la utilización de colesterol para la síntesis de otros esteroides, como hormonas, o ácidos biliares en el hígado.

El receptor de LDL está altamente regulado

Los receptores de LDL (apo B-100, E) se encuentran en la superficie de la célula en hoyuelos que están recubiertos en el lado citosólico de la membrana celular con una proteína llamada **clatrina**. El receptor de glicoproteína abarca la membrana, y la región de unión B-100 está en el extremo amino terminal expuesto. Después de la unión, la LDL es captada intacta por **endocitosis**. La apoproteína y el colesteril éster se hidrolizan en los lisosomas y el colesterol se traslada a la célula. Los receptores se reciclan a la superficie de la célula. Esta afluencia de colesterol inhibe la transcripción de los genes que codifican HMG-CoA sintasa, la HMG-CoA reductasa y otras enzimas implicadas en la síntesis de colesterol, así como el receptor LDL en sí, a través de la vía SREBP y suprime de forma coordinada la síntesis y captación de colesterol. La actividad ACAT también se estimula, promoviendo la esterificación del colesterol. Además, una investigación reciente ha demostrado que la proteína **proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9)** regula el reciclado del receptor a la superficie celular al dirigirse a la degradación. Mediante estos mecanismos, la actividad del receptor

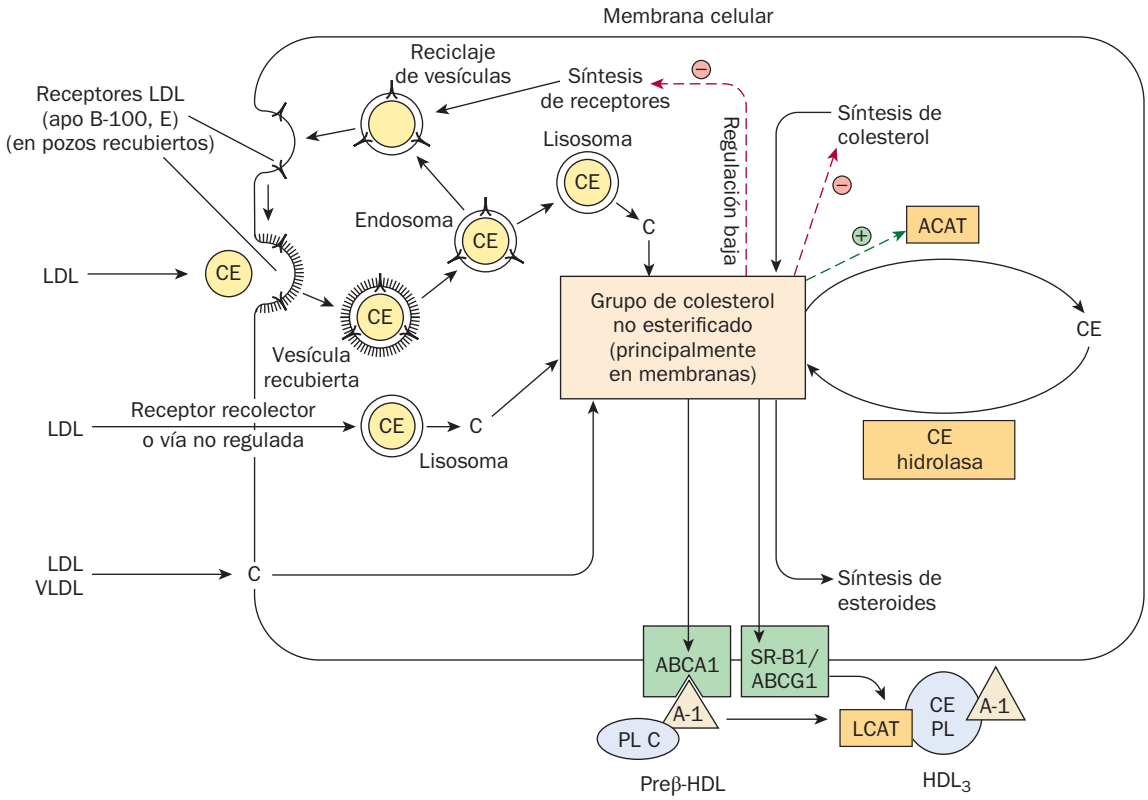


FIGURA 26-5 **Factores que afectan el equilibrio del colesterol a nivel celular.** El transporte inverso de colesterol puede estar mediado por la proteína transportadora ABCA1 (con preβ-HDL como receptor exógeno) o por la SR-B1 o por la ABCG1 (con HDL_3 como el receptor exógeno). (ACAT, acil-CoA: colesterol aciltransferasa; AI: apolipoproteína AI; C: colesterol; CE: colesteril éster; LCAT lecitina: colesterol aciltransferasa; LDL: lipoproteína de baja densidad; PL: fosfolípido; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad). LDL y HDL no se muestran a escala.

LDL en la superficie celular está regulada por el requerimiento de colesterol para membranas, hormonas esteroides o síntesis de ácidos biliares, y el contenido de colesterol libre de la célula se mantiene dentro de límites relativamente estrechos (figura 26-5).

EL COLESTEROL SE TRANSPORTA ENTRE TEJIDOS EN LIPOPROTEÍNAS DEL PLASMA

La mayor parte del colesterol se transporta en el plasma, en las lipoproteínas, en forma de colesteril éster (**figura 26-6)**, y en los humanos la proporción más alta se encuentra en LDL.

El colesterol en la dieta se equilibra con el colesterol plasmático en días y con el colesterol tisular en semanas. El colesteril éster en la dieta se hidroliza hacia colesterol, que a continuación se absorbe en el intestino junto con el colesterol no esterificado y otros lípidos de la dieta. Con el colesterol sintetizado en los intestinos es entonces incorporado a los quilomicrones. (véase capítulo 25). De 80 a 90% del colesterol absorbido se esterifica con ácidos grasos de cadena larga en la mucosa intestinal. Del colesterol de quilomicrón, 95% se lleva al hígado en remanentes de quilomicrón, y la mayor parte del colesterol secretado por el hígado en lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) se retiene durante la formación de lipoproteína de densidad intermedia (IDL) y por último de LDL, que es captada por el receptor de LDL en el hígado y los tejidos extrahepáticos (véase capítulo 25).

Casi todo el colesteril éster plasmático en seres humanos depende de la LCAT plasmática

La actividad de la **lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT)** está asociada con HDL que contiene apo A-I. A medida que el colesterol se esterifica en HDL, crea un gradiente de concentración y atrae el colesterol de los tejidos y de otras lipoproteínas (figuras 26-5 y 26-6), permitiendo así que el HDL funcione en el transporte de colesterol inverso (véase la figura 25-5).

La proteína de transferencia de colesteril éster facilita su transferencia desde HDL a otras lipoproteínas

La **proteína de transferencia de colesteril éster,** asociada a HDL, se encuentra en el plasma de humanos y muchas otras especies. Facilita la transferencia de colesteril éster desde HDL hacia VLDL, IDL y LDL en intercambio por triacilglicerol, lo que alivia la inhibición por producto de la actividad de LCAT en HDL. Por tanto, en los seres humanos, gran parte del colesteril éster formado por LCAT llega al hígado a través de los restos de VLDL (IDL) o LDL (figura

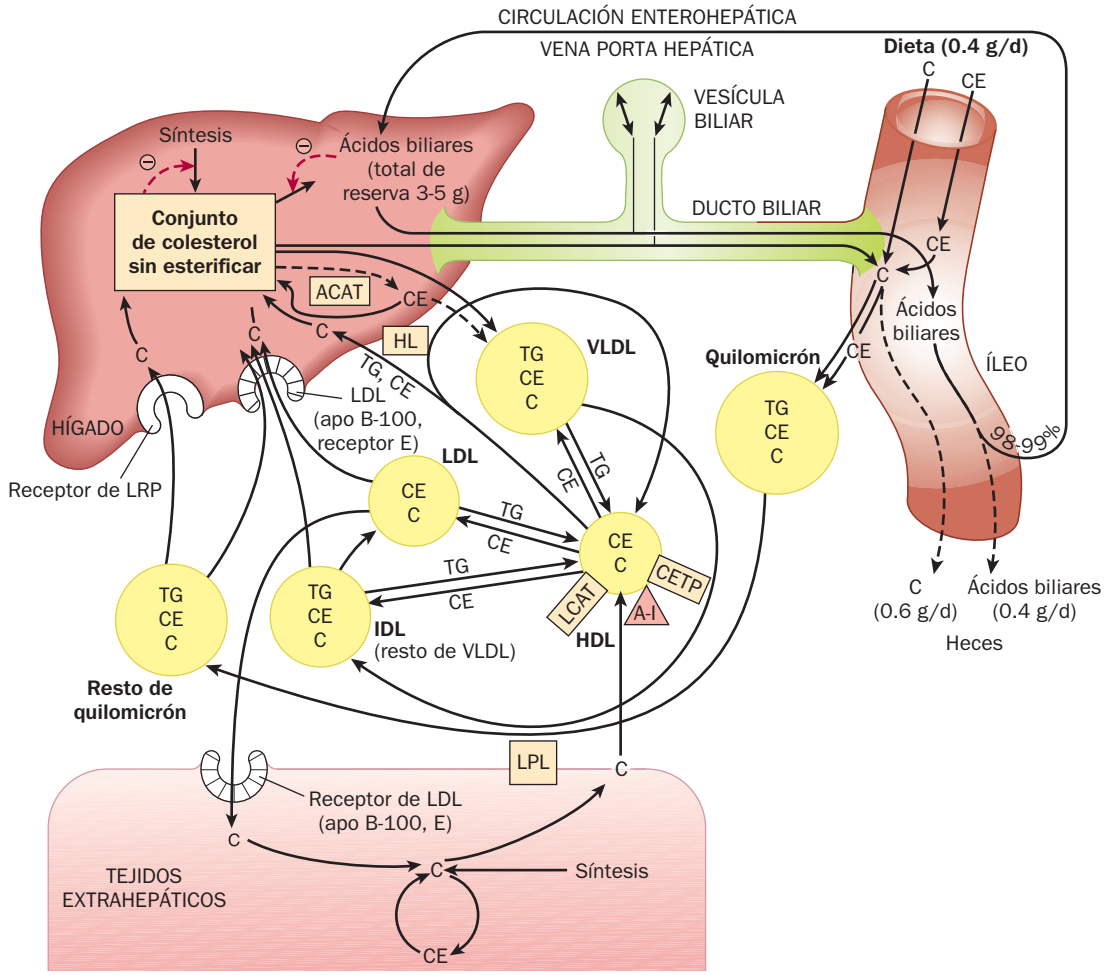


FIGURA 26-6 **Transporte de colesterol entre los tejidos en humanos**. (ACAT, acil-CoA: colesterol aciltransferasa; AI: apolipoproteína AI; C: colesterol no esterificado; CE: colesteril éster; CETP: proteína de transferencia de colesteril éster; HDL: lipoproteína de alta densidad; HL: lipasa hepática; IDL: lipoproteína de densidad intermedia; LCAT, lecitina: colesterol aciltransferasa; LDL: lipoproteína de baja densidad; LPL: lipoproteína lipasa; LRP: proteína relacionada con el receptor LDL-1; TG: triacilglicerol; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad).

26-6). El HDL_2 enriquecido con triacilglicerol administra su colesterol al hígado en el ciclo de HDL (véase figura 25-5).

EL COLESTEROL SE EXCRETA DEL CUERPO EN LA BILIS COMO COLESTEROL O COMO ÁCIDOS BILIARES (SALES)

El colesterol se excreta del cuerpo a través de la bilis, ya sea en forma no esterificada o después de la conversión en ácidos biliares en el hígado. El **coprostanol** es el principal esterol en las heces; es sintetizado por las bacterias en la parte baja del intestino a partir del colesterol.

Los ácidos biliares se forman a partir del colesterol

Los **ácidos biliares primarios** se sintetizan en el hígado a partir del colesterol. Estos son **el ácido cólico** (que se encuentra en grandes cantidades en la mayoría de los mamíferos) y **el ácido quenodesoxicólico** (figura 26-7). La 7α-hidroxilación del colesterol es el primer y principal paso regulador en la biosíntesis de los ácidos biliares y está catalizada por el **colesterol 7α-hidroxilasa**, una enzima microsomal del citocromo P450 designado **CYP7A1** (véase capítulo 12). Una monooxigenasa típica requiere oxígeno, NADPH y citocromo P450. Los pasos posteriores de hidroxilación también son catalizados por monooxigenasas. La vía de la biosíntesis de ácido biliar se divide en etapas tempranas hacia una subvía que lleva a colil-CoA y se caracteriza por un grupo α-OH extra en la posición 12, y por otra vía que conduce a la síntesis de quenodesoxicolil-CoA (figura 26-7). La biosíntesis de ácidos biliares tiene una segunda vía en las mitocondrias e involucra la 27-hidroxilación del colesterol por el citocromo P450 **esterol 27-hidroxilasa (CYP27A1)** ya que la primera etapa es responsable de una proporción significativa de los ácidos biliares primarios sintetizados. Los ácidos biliares primarios (figura 26-7) entran en la bilis como compuestos de glicina o taurina. La síntesis tiene lugar en peroxisomas hepáticos. En humanos, la relación de los conjugados de glicina a taurina es normalmente 3:1. En la bilis alcalina (pH 7.6-8.4), se supone que los ácidos bilia-

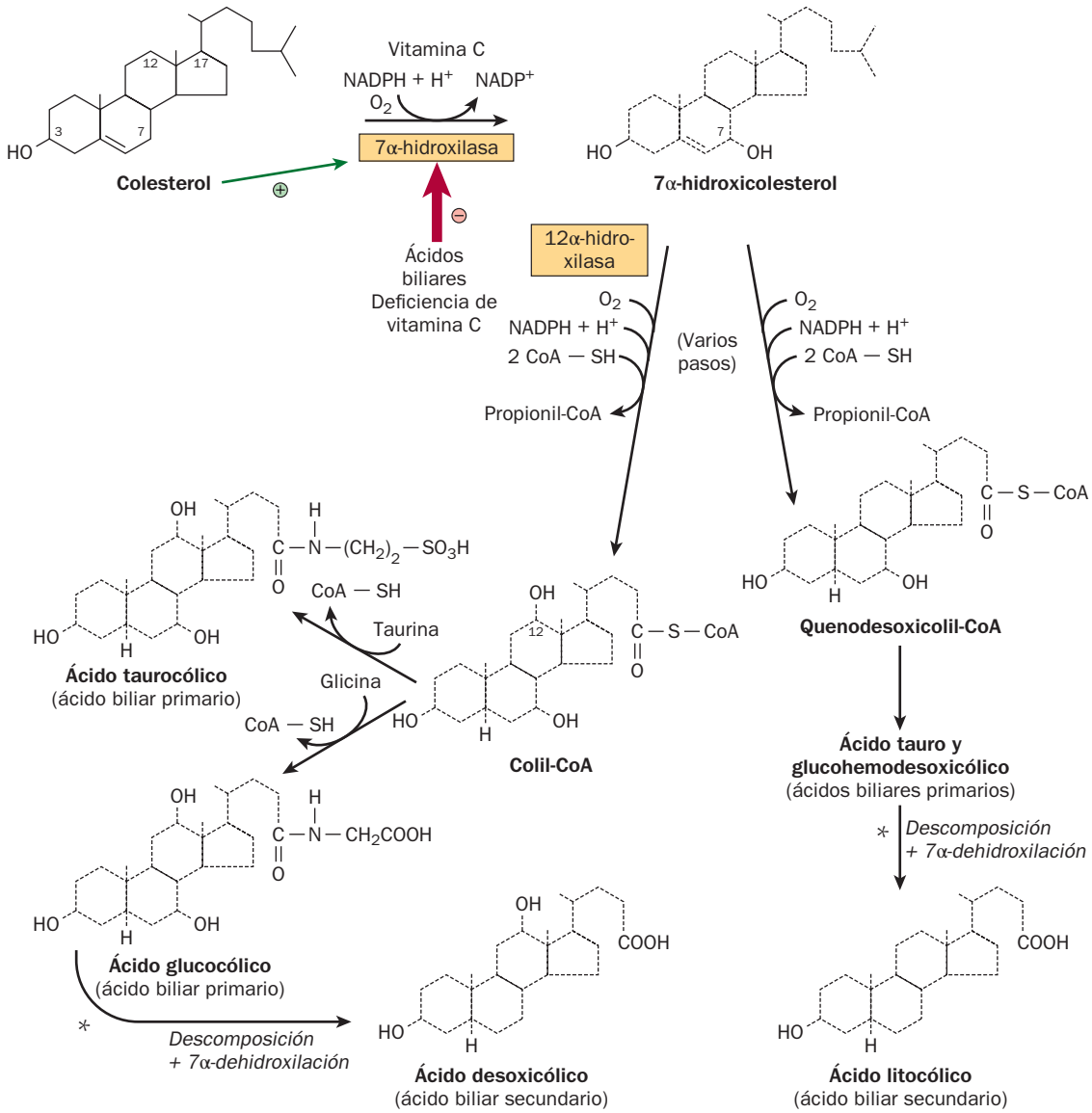


FIGURA 26-7 **Biosíntesis y degradación de ácidos biliares**. Una segunda vía en las mitocondrias implica la hidroxilación del colesterol por el esterol 27-hidroxilasa. *Catalizado por enzimas microbianas.

res y sus compuestos están en forma de sal, de ahí el término "sales biliares".

Los ácidos biliares primarios se metabolizan más en el intestino mediante la actividad de las bacterias intestinales. Así, ocurren desconjugación y 7α-deshidroxilación, lo que produce los ácidos biliares secundarios, ácido desoxicólico y ácido litocólico.

La mayoría de los ácidos biliares regresan al hígado en la circulación enterohepática

Aun cuando los productos de la digestión de grasa, incluso el colesterol, se absorben en los primeros 100 cm del intestino delgado, los ácidos biliares primarios y secundarios son absorbidos casi exclusivamente en el íleon, y de 98 a 99% se devuelve al hígado a través de la circulación portal. Esto es conocido como **circulación enterohepática** (figura 26-6). Sin embargo, el ácido litocólico, debido a su insolubilidad, no se reabsorbe de manera significativa. Sólo una pequeña fracción de las sales biliares escapa a la absorción y, por tanto, se elimina en las heces. No obstante, representa una vía principal para la eliminación del colesterol. El conjunto de ácidos biliares (de 3-5 g) pasa 6 a 10 veces en un ciclo por el intestino, y una cantidad de ácido biliar equivalente a la que se pierde en las heces se sintetiza a partir de colesterol, de manera que se mantiene un fondo común de ácidos biliares de tamaño constante. Esto se logra mediante un sistema de controles de retroalimentación.

La síntesis de ácido biliar está regulada en el paso de la 7α-hidroxilasa

La principal etapa limitante de la velocidad en la biosíntesis de los ácidos biliares es en la **reacción de colesterol 7α-hidroxilasa** (figura 26-7). La actividad de la enzima se regula por retroalimentación a través del receptor de unión a ácido biliar nuclear, **receptor X farnesoide (FXR,** *farnesoid X receptor*). Cuando aumenta el tamaño del

conjunto de ácidos biliares en la circulación enterohepática, se activa el FXR y se suprime la transcripción del gen CYP7A1. El ácido quenodesoxicólico es particularmente importante en la activación de FXR. La actividad de CYP7A1 también se ve potenciada por el colesterol de origen endógeno y dietético y es regulado por la insulina, el glucagón, los glucocorticoides y la hormona tiroidea.

ASPECTOS CLÍNICOS

El colesterol sérico se correlaciona con la incidencia de aterosclerosis y de la enfermedad coronaria

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria caracterizada por la deposición de colesterol y colesteril éster de las lipoproteínas plasmáticas en la pared de la arteria y es una de las principales causas de la enfermedad cardiaca. Los niveles elevados de colesterol en plasma (>5.2 mmol/L) son uno de los factores más importantes en la propensión a aterosclerosis; pero ahora también se reconoce que los niveles elevados de triacilglicerol en sangre son un factor de riesgo independiente. Las enfermedades en las que hay un aumento prolongado de los niveles de VLDL, IDL, restos de quilomicrones o LDL en la sangre (p. ej., **diabetes mellitus**, **nefrosis lipídica**, **hipotiroidismo** y **otras condiciones de hiperlipidemia**) a menudo van acompañadas de aterosclerosis prematura o más grave. También existe una relación inversa entre las concentraciones de HDL (HDL_2) y la enfermedad coronaria, lo que hace que **la proporción de colesterol de LDL:HDL sea un buen parámetro predictivo**. Esto es coherente con la función de HDL en el transporte inverso de colesterol. La propensión a aterosclerosis varía considerablemente de una especie a otra y la humana es una de las pocas en la que la enfermedad puede ser inducida por dietas altas en colesterol.

La dieta puede jugar un papel importante en la reducción del colesterol sérico

Los factores hereditarios tienen la función más importante en la determinación de las cifras individuales de colesterol sérico; de cualquier modo, también participan factores de la dieta y ambientales, y el más beneficioso de estos es la sustitución de los ácidos grasos saturados en la dieta por **ácidos grasos poliinsaturados** y **monoinsaturados**. Los aceites vegetales como el aceite de maíz y el aceite de semilla de girasol contienen una alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados ω6, mientras que el aceite de oliva contiene una alta concentración de ácidos grasos monoinsaturados. Los ácidos grasos ω3 que se encuentran en los aceites de pescado también son beneficiosos (véase capítulo 21). Por otro lado, la grasa de la mantequilla, la grasa de vaca y el aceite de palma contienen una alta proporción de ácidos grasos saturados. La sacarosa y la fructosa tienen un efecto mayor que otros carbohidratos en la elevación de los lípidos en sangre, en particular el triacilglicerol.

Uno de los mecanismos mediante el cual los ácidos grasos insaturados disminuyen los niveles de colesterol en la sangre es la regulación positiva de los receptores LDL en la superficie celular, lo que provoca un aumento en la tasa catabólica de LDL, la principal lipoproteína aterogénica. Además, los ácidos grasos ω3 tienen efectos antiinflamatorios y reductores de triacilglicerol. Los ácidos grasos saturados también causan la formación de partículas de VLDL más pequeñas que contienen relativamente más colesterol, y son utilizadas por los tejidos extrahepáticos a un ritmo más lento que las partículas más grandes, tendencias que pueden considerarse aterogénicas.

El estilo de vida afecta el nivel de colesterol sérico

Otros factores que se considera intervienen en la enfermedad cardiaca: **hipertensión arterial**, **tabaquismo**, **sexo masculino**, **obesidad** (**en especial obesidad abdominal**), **falta de ejercicio** y beber agua blanda en lugar de agua dura. El **estrés emocional** y **el consumo de café** se encuentran entre los factores asociados a la elevación de los ácidos grasos libres de plasma (FFAs, *free fatty acids*) seguidos de un aumento de la producción de triacilglicerol y colesterol en la circulación en VLDL**.** Las mujeres premenopáusicas parecen estar protegidas contra muchos de estos factores nocivos, y se cree que esto está relacionado con los efectos beneficiosos del **estrógeno**. Existe una asociación entre el **consumo moderado de alcohol** y una menor incidencia de enfermedad coronaria. Esto puede deberse a la elevación de las concentraciones de HDL resultante de la síntesis aumentada de apo A-I y a los cambios en la actividad de la proteína de transferencia del colesteril éster. Se ha afirmado que el vino tinto es particularmente beneficioso, tal vez debido a su contenido de antioxidantes. El ejercicio regular reduce el LDL en plasma, pero aumenta el HDL. Las concentraciones de triacilglucerol también se reducen, muy probablemente debido al aumento de la sensibilidad a la insulina, lo que multiplica la expresión de la lipoproteína lipasa.

Cuando los cambios en la dieta fallan, los medicamentos hipolipidémicos pueden reducir el colesterol sérico y el triacilglicerol

Una familia de medicamentos conocida como **estatinas** ha demostrado ser altamente eficaz para reducir el colesterol en plasma y prevenir la enfermedad cardiaca. Las estatinas actúan inhibiendo la HMG-CoA reductasa y regulando de modo ascendente la actividad del receptor de LDL. Son ejemplos de medicamentos actualmente en uso la **atorvastatina**, la **simvastatina**, la **fluvastatina** y la **pravastatina**. La **ezetimiba** reduce los niveles de colesterol en sangre al inhibir la absorción de colesterol por el intestino al bloquear la captación a través de la proteína parecida a la C1 de Niemann-Pick. Otros fármacos utilizados son fibratos como el **clofibrato**, el **gemfibrozilo** y el ácido nicotínico**,** que actúan principalmente para disminuir los triacilgliceroles plasmáticos al aminorar la secreción hepática de triacilglicerol y colesterol que contienen las VLDL. Dado que PCSK9 reduce el número de receptores LDL expuestos en la membrana celular, tiene el efecto de elevar los niveles de colesterol en la sangre, por tanto, los fármacos que inhiben su actividad son potencialmente antiaterogénicos. Recientemente se han aprobado dos compuestos para su uso y otros están actualmente en fase de ensayos clínicos.

Los trastornos primarios de las lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias) son hereditarios

Los defectos hereditarios en el metabolismo de las lipoproteínas conducen a la condición primaria de **hipo** o **hiperlipoproteinemia** (**cuadro 26-1**). Por ejemplo, **la hipercolesterolemia familiar (HF**, *familial hypercholesterolemia*) causa hipercolesterolemia grave y tam-

CUADRO 26-1 Trastornos primarios de las lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias)

Nombre	Defecto	Comentarios
Hipolipoproteinemia Abetalipoproteinemia	No se forman quilomicrones, VLDL o LDL debido a un defecto en la carga de apo B con lípidos.	Raro; acilgliceroles en sangre bajos; el intestino y el hígado acumulan acilgliceroles. Malabsorción intestinal. Muerte temprana evitable mediante la administración de grandes dosis de vitaminas liposolubles, en particular vitamina E.
Deficiencia familiar de α-lipoproteínas Enfermedad de Tánger Enfermedad de ojo de pescado Deficiencias de Apo AI	Todos tienen baja o casi nula presencia de HDL.	Tendencia a la hipertriacilglicerolemia como resultado de la ausencia de apo C-II, que causa LPL inactiva. Bajos niveles de LDL. Aterosclerosis en el anciano.
Hiperlipoproteinemia Deficiencia de lipoproteína lipasa familiar (tipo I)	Hipertriacilglicerolemia debido a deficiencia de LPL, LPL anormal o deficiencia de apo C-II que causa LPL inactiva.	Eliminación lenta de quilomicrones y VLDL. Bajos niveles de LDL y HDL. Sin aumento del riesgo de enfermedad coronaria.
Hipercolesterolemia familiar (tipo IIa)	Defectos de los receptores de LDL o mutación en la región del ligando de apo B-100.	Niveles elevados de LDL e hipercolesterolemia, lo que resulta en aterosclerosis y enfermedad coronaria.
Hiperlipoproteinemia tipo III familiar (enfermedad β amplia, enfermedad de eliminación de restos, disbetalipoproteinemia familiar)	La deficiencia en la eliminación de restos por el hígado se debe a una anomalía en la apo E. Los pacientes carecen de las isoformas E3 y E4 y sólo tienen E2, que no reacciona con el E receptor[a].	Aumento de los restos de densidad de quilomicrones y VLDL <1.019 (β-VLDL). Causa hipercolesterolemia, xantomas y aterosclerosis.
Hipertriacilglicerolemia familiar (tipo IV)	La sobreproducción de VLDL a menudo se asocia con intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia.	Los niveles de colesterol aumentan con la concentración de VLDL. LDL y HDL, y tienden a ser subnormales. Este tipo de patrón se asocia comúnmente a enfermedad coronaria, diabetes mellitus tipo 2, obesidad, alcoholismo y administración de hormonas progestacionales.
Hiperalfalipoproteinemia familiar	Incremento de las concentraciones de HDL.	Una rara condición aparentemente beneficiosa para la salud y la longevidad.
Deficiencia de lipasa hepática	La deficiencia de la enzima conduce a la acumulación de grandes restos de VLDL y HDL ricos en triacilglicerol.	Los pacientes tienen xantomas y enfermedad coronaria.
Lecitina familiar: deficiencia de colesterol aciltransferasa (LCAT, *cholesterol acyltransferase*)	La ausencia de LCAT conduce a bloqueo en el transporte de colesterol inverso. HDL permanece como discos nacientes incapaces de absorber y esterificar el colesterol.	Las concentraciones plasmáticas de colesteril ésteres y lisolecitina son bajas. Presente en una fracción anormal de LDL, la lipoproteína X, que también se encuentra en pacientes con colestasis. VLDL es anormal (β-VLDL).
Exceso de lipoproteína familiar(a)	La Lp (a) consiste en 1 mol de LDL unida a 1 mol de apo (a). Apo (a) muestra homologías estructurales con el plasminógeno.	Enfermedad cardiaca coronaria prematura debida a la aterosclerosis, más trombosis debida a la inhibición de la fibrinólisis.

[a]Existe una asociación entre pacientes que poseen el alelo apo E4 y la incidencia de la enfermedad de Alzheimer. Aparentemente, la apo E4 se une más fácilmente al β-amiloide que se encuentra en las placas neuríticas.
Abreviaturas: LDL: lipoproteína de baja densidad; LPL: lipoproteína lipasa; HDL: lipoproteína de alta densidad; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.

bién se asocia con aterosclerosis prematura. El defecto es más a menudo en el gen del receptor de LDL, por lo que el LDL no se elimina de la sangre. Además, enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal (síndrome nefrótico) y la aterosclerosis están asociadas con patrones secundarios de lipoproteínas anormales que son muy similares a alguna de las afecciones hereditarias primarias. Casi todas las condiciones primarias se deben a un defecto en una etapa de síntesis, transporte o degradación de lipoproteínas (véanse figuras 25-4, 26-5 y 26-6). No todas las anormalidades son dañinas.

RESUMEN

- El colesterol es el precursor de todos los otros esteroides en el cuerpo, por ejemplo, los corticosteroides, las hormonas sexuales, los ácidos biliares y la vitamina D. También juega un papel estructural importante en las membranas y en la capa externa de las lipoproteínas.
- Todo el colesterol se sintetiza en el cuerpo exclusivamente a partir de acetil-CoA. Tres moléculas de acetil-CoA forman mevalonato a través de la importante reacción reguladora para la ruta que es

catalizada por HMG-CoA reductasa. A continuación, se forma una unidad isoprenoide de cinco carbonos, y seis de estos se condensan para formar escualeno. El escualeno pasa por ciclos para formar el esteroide principal, lanosterol, que forma colesterol después de la pérdida de tres grupos metilo y otros cambios.

- La síntesis de colesterol en el hígado está en parte regulada por el colesterol en la dieta. En los tejidos, el equilibrio del colesterol se mantiene entre los factores que causan la ganancia de colesterol (por ejemplo, su síntesis, su absorción a través del LDL o receptores recolectores) y los factores que causan la pérdida de colesterol (por ejemplo, la síntesis de esteroides, la formación de colesteril éster, la excreción). Para lograr este equilibrio la actividad del receptor de LDL está modulada por los niveles de colesterol celular. En el transporte inverso de colesterol, el HDL absorbe el colesterol de los tejidos y la LCAT lo esterifica y lo deposita en el núcleo de las partículas. El colesteril éster en HDL es absorbido por el hígado de manera directa o después de la transferencia a VLDL, IDL o LDL a través de la proteína de transferencia del colesteril éster.
- El exceso de colesterol se excreta del hígado a través de la bilis como colesterol o sales biliares. Una gran proporción de las sales biliares es absorbida en la circulación portal y devuelta al hígado como parte de la circulación enterohepática.
- Los niveles elevados de colesterol presentes en VLDL, IDL o LDL están asociados con la aterosclerosis, mientras que los niveles altos de HDL tienen un efecto protector.
- Los defectos hereditarios en el metabolismo de las lipoproteínas conducen a una afección primaria de hipo o hiperlipoproteinemia. Las condiciones como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal y la aterosclerosis muestran patrones secundarios de lipoproteínas anormales que se asemejan a ciertas afecciones primarias.

REFERENCIAS

Brown AJ, Sharpe LJ. Cholesterol synthesis. In: Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6a. ed. Academic Press; 2015. pp. 328-358.

Dawson PA. Bile acid metabolism. In: Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6a. ed. Academic Press; 2015. pp. 359-390.

Francis G. High density lipoproteins: metabolism and protective roles against atherosclerosis. In: Ridgway N, McLeod R (eds.). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. 6a. ed. Academic Press; 2015. pp. 437-459.

Preguntas del examen

Sección V. Metabolismo de los lípidos

1. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones con respecto a las moléculas de ácidos grasos es CORRECTA?
   A. Consisten en un grupo principal de ácido carboxílico unido a una cadena de carbohidratos.
   B. Se llaman poliinsaturados cuando contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono.
   C. Sus puntos de fusión aumentan al aumentar la insaturación.
   D. Casi siempre tienen sus dobles enlaces en la configuración cis cuando ocurren de forma natural.
   E. Se presentan en el cuerpo principalmente en forma de ácidos grasos libres (no esterificados).
2. ¿Cuál de los siguientes NO es un fosfolípido?
   A. Esfingomielina.
   B. Plasmalógeno.
   C. Cardiolipina.
   D. Galactosilceramida.
   E. Lisolecitina.
3. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre los gangliósidos es INCORRECTA?
   A. Se derivan de galactosilceramida.
   B. Contienen una o más moléculas de ácido siálico.
   C. Están presentes en tejido nervioso en altas concentraciones.
   D. El ganglíosido GM1 es el receptor de la toxina del cólera en el intestino humano.
   E. Funcionan en el reconocimiento célula-célula.
4. ¿Cuál de los siguientes es un antioxidante que rompe cadenas?
   A. Glutatión peroxidasa.
   B. Selenio.
   C. Superóxido dismutasa.
   D. EDTA.
   E. Catalasa.
5. ¿Para cuál de los siguientes procesos los cuerpos de cetona se utilizan principalmente después de que se producen a partir de acetil-CoA en el hígado?
   A. La excreción como producto de desecho.
   B. Generación de energía en el hígado.
   C. Conversión a ácidos grasos para el almacenamiento de energía.
   D. Generación de energía en los tejidos.
   E. Generación de energía en los glóbulos rojos.
6. El sitio subcelular de la descomposición de ácidos grasos de cadena larga a acetil-CoA a través de la β-oxidación son:
   A. El citosol.
   B. La matriz de las mitocondrias.
   C. El retículo endoplasmático.
   D. El espacio intermembrana mitocondrial.
   E. El aparato de Golgi.
7. La carnitina es necesaria para la oxidación de ácidos grasos PORQUE:
   A. Es un cofactor para la acil-CoA sintetasa, que activa los ácidos grasos para descomponerlos.
   B. La acil-CoA de cadena larga ("ácidos grasos activados") necesita ingresar a la matriz mitocondrial para ser oxidada, pero no puede atravesar la membrana mitocondrial externa. La transferencia del grupo acilo de CoA a carnitina permite que se produzca la translocación.
   C. La acilcarnitina, formada cuando los grupos acilo de cadena larga se transfieren de CoA a carnitina, es el sustrato para el primer paso en la vía de la β-oxidación.
   D. La acil-CoA de cadena larga ("ácidos grasos activados") necesita ingresar al espacio intermembrana mitocondrial para ser oxidada, pero no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. La transferencia del grupo acilo de CoA a carnitina permite que se produzca la translocación.
   E. Previene la descomposición del acil-CoA graso de cadena larga en el espacio intermembrana mitocondrial.
8. La descomposición de una molécula de un ácido graso totalmente saturado C16 (ácido palmítico) por la oxidación β condujo a la formación de:
   A. 8 moléculas de $FADH_2$, 8 moléculas de NADH y 8 moléculas de acetil-CoA.
   B. 7 moléculas de $FADH_2$, 7 moléculas de NADH y 7 moléculas de acetil-CoA.
   C. 8 moléculas de $FADH_2$, 8 moléculas de NADH y 7 moléculas de acetil-CoA.
   D. 7 moléculas de $FADH_2$, 8 moléculas de NADH y 8 moléculas de acetil-CoA.
   E. 7 moléculas de FADH2, 7 moléculas de NADH y 8 moléculas de acetil-CoA.
9. El malonil-CoA, el primer intermediario en la síntesis de ácidos grasos, es un importante regulador del metabolismo de los ácidos grasos PORQUE:
   A. Su formación a partir de acetil-CoA y bicarbonato por la enzima acetil-CoA carboxilasa es el principal paso limitante en la síntesis de ácidos grasos.
   B. Previene la entrada de grupos acilo graso en la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la carnitina palmitoil transferasa-I.
   C. Evita la entrada de grupos acilo grasos en la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la carnitina palmitoil transferasa-II.
   D. Previene la entrada de grupos acilo grasos en la matriz de las mitocondrias porque es un potente inhibidor de la translocasa carnitina-acilcarnitina.
   E. Inhibe la síntesis de acil-CoA graso.
10. El ácido α-linolénico se considera nutricionalmente esencial en los humanos PORQUE:
    A. Es un ácido graso ω3.
    B. Contiene tres dobles enlaces.
    C. En los seres humanos, los dobles enlaces no pueden introducirse en los ácidos grasos más allá de la posición Δ9.
    D. En los seres humanos, los dobles enlaces no pueden introducirse en los ácidos grasos más allá de la posición Δ12.
    E. Los tejidos humanos no pueden introducir un doble enlace en la posición Δ9 de los ácidos grasos.
11. Se favorece la inactivación de la acetil-CoA carboxilasa CUANDO:
    A. Los niveles de citrato citosólico son altos.
    B. Se encuentra en forma polimérica.
    C. Los niveles de palmitoil-CoA son bajos.
    D. El transportador de tricarboxilato está inhibido.
    E. Está desfosforilado.
12. ¿Cuál de los siguientes eicosanoides se sintetiza a partir del ácido linoleico a través de la vía de la ciclooxigenasa?
    A. Prostaglandina E_1 (PGE_1).
    B. Leucotrieno A_3 (LTA_3).
    C. Prostaglandina E_3 (PGE_3).
    D. Lipoxina A_4 (LXA_4).
    E. Tromboxane A_3 (TXA_3).

13. ¿Cuál de las siguientes enzimas está inhibida por el medicamento antiinflamatorio noesteroideo (NSAID) ácido acetilsalicílico?
    A. Lipoxigenasa.
    B. Prostaciclina sintasa.
    C. Ciclooxigenasa.
    D. Tromboxano sintasa.
    E. Δ6 desaturasa.
14. ¿Cuál de los siguientes es el principal producto de la sintasa de ácidos grasos?
    A. Acetil-CoA.
    B. Oleato.
    C. Palmitoil-CoA.
    D. Acetoacetato.
    E. Palmitate.
15. Los ácidos grasos se descomponen mediante la eliminación repetida de dos fragmentos de carbono como acetil-CoA en el ciclo de oxidación β, y se sintetizan mediante la condensación repetida de acetil-CoA hasta que se forme un ácido graso saturado de cadena larga con un número par de carbonos. Dado que los ácidos grasos deben descomponerse cuando la energía es escasa y se sintetizan cuando abunda, existen diferencias importantes entre los dos procesos que ayudan a las células a regularlos de manera eficiente. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre estas diferencias es INCORRECTA?
    A. La descomposición de los ácidos grasos ocurre dentro de las mitocondrias, mientras que la síntesis ocurre en el citosol.
    B. La descomposición de los ácidos grasos usa NAD^+ y produce NADH, mientras que la síntesis usa NADPH y produce NADP.
    C. Los grupos acilo grasos se activan para descomponerse utilizando CoA y para la síntesis utilizando proteína transportadora de acilo.
    D. El transporte a través de la membrana mitocondrial de los grupos acilo grasos es necesario para la descomposición de los ácidos grasos, pero no para la síntesis.
    E. El glucagón promueve la síntesis de ácidos grasos e inhibe la descomposición de los ácidos grasos.
16. La lipasa sensible a las hormonas, la enzima que moviliza los ácidos grasos de las reservas de triacilglicerol en el tejido adiposo es inhibida por:
    A. Glucagón.
    B. ACTH.
    C. Epinefrina.
    D. Vasopresina.
    E. Prostaglandina E.
17. ¿Cuál de los siguientes describe mejor la acción de la fosfolipasa C?
    A. Libera la cadena de acilo graso de la posición sn-2 de un fosfolípido.
    B. Divide un fosfolípido en su grupo principal que contiene fosfato y un diacilglicerol.
    C. Libera el grupo de cabeza de un fosfolípido, dejando ácido fosfatídico.
    D. Libera la cadena de acilo graso de la posición sn-1 de un fosfolípido.
    E. Libera las cadenas de acilo graso de las posiciones sn-1 y sn-2 de un fosfolípido.
18. La enfermedad de Tay-Sachs es una enfermedad de almacenamiento de lípidos causada por un defecto genético en el que se encuentra una de las siguientes enzimas:
    A. β-galactosidasa.
    B. Esfingomielinasa.
    C. Ceramidasa.
    D. Hexosaminidasa A.
    E. β-glucosidasa.
19. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas responde mejor a la siguiente descripción: sintetizadas en la mucosa intestinal, contienen una alta concentración de triacilglicerol y son responsables del transporte de los lípidos de la dieta en la circulación?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteínas de alta densidad.
    C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
    D. Lipoproteínas de baja densidad.
    E. Lipoproteínas de muy baja densidad.
20. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor de la siguiente manera: sintetizada en el hígado, contiene una alta concentración de triacilglicerol, y se elimina principalmente de la circulación mediante el tejido adiposo y el músculo?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteínas de alta densidad.
    C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
    D. Lipoproteínas de baja densidad.
    E. Lipoproteínas de muy baja densidad.
21. ¿Cuál de las lipoproteínas plasmáticas se describe mejor de la siguiente manera: se forma en la circulación mediante la eliminación de triacilglicerol de la lipoproteína de muy baja densidad, contiene apo B-100, libera colesterol a los tejidos extrahepáticos?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteínas de alta densidad.
    C. Lipoproteínas de densidad intermedia.
    D. Lipoproteínas de baja densidad.
    E. Lipoproteínas de muy baja densidad.
22. ¿Cuál de las siguientes opciones estará elevada en el torrente sanguíneo casi 2 horas después de comer una comida alta en grasas?
    A. Quilomicrones.
    B. Lipoproteínas de alta densidad.
    C. Cuerpos cetónicos.
    D. Ácidos grasos no esterificados.
    E. Lipoproteínas de muy baja densidad.
23. ¿Cuál de las siguientes opciones se elevará en el torrente sanguíneo casi 4 horas después de comer una comida alta en grasas?
    A. Lipoproteínas de baja densidad.
    B. Lipoproteínas de alta densidad.
    C. Cuerpos cetónicos.
    D. Ácidos grasos no esterificados.
    E. Lipoproteínas de muy baja densidad.
24. ¿Cuál de los siguientes procesos NO participa en la transferencia de colesterol de tejidos extrahepáticos y su entrega al hígado para su excreción por HDL?
    A. Eflujo de colesterol de los tejidos a pre β-HDL a través de $ABCA_1$.
    B. Esterificación de colesterol a éster de colesterilo por LCAT para formar HDL_3.
    C. Transferencia de éster de colesterilo de HDL a VLDL, IDL y LDL por la acción de la proteína de transferencia de éster de colesterilo (CETP).
    D. Eflujo de colesterol de los tejidos a HDL_3 a través de SR-B1 y $ABCG_1$.
    E. Captación selectiva de éster de colesterilo de HDL_2 por el hígado a través de SR-B1.

25. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre quilomicrones es CORRECTA?
    A. Los quilomicrones se producen dentro de las células intestinales y se secretan en la linfa, donde adquieren las apolipoproteínas B y C.
    B. El núcleo de los quilomicrones contiene triacilglicerol y fosfolípidos.
    C. La enzima lipasa sensible a la hormona actúa sobre los quilomicrones para liberar ácidos grasos del triacilglicerol cuando se unen a la superficie de las células endoteliales en los capilares sanguíneos.
    D. Los remanentes de quilomicrones difieren de los quilomicrones en que son más pequeños y contienen una proporción más baja de triacilglicerol, y una proporción más alta de colesterol.
    E. Los quilomicrones son absorbidos por el hígado.
26. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre la biosíntesis del colesterol es CORRECTA?
    A. El paso limitante de la velocidad es la formación de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por la enzima HMG-CoA sintasa.
    B. La síntesis se produce en el citosol de la célula.
    C. Todos los átomos de carbono en el colesterol sintetizado se originan a partir de acetil-CoA.
    D. El escualeno es el primer intermedio cíclico en la vía.
    E. El sustrato inicial es mevalonato.
27. La clase de medicamentos llamados estatinas ha demostrado ser muy eficaz contra la hipercolesterolemia, una de las principales causas de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares asociadas. Estos medicamentos reducen los niveles de colesterol en plasma al:
    A. Evitar la absorción de colesterol en el intestino.
    B. Aumentar la excreción de colesterol del cuerpo a través de la conversión a ácidos biliares.
    C. Inhibir de la conversión de 3-hidroxi-3-metilglutarilCoA en mevalonato en la ruta para la biosíntesis del colesterol.
    D. Aumentar la tasa de degradación de la 3-hidroxi-3 metilglutaril-CoA reductasa.
    E. Estimular la actividad del receptor de LDL en el hígado.
28. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre los ácidos biliares (o sales biliares) es INCORRECTA?
    A. Los ácidos biliares primarios se sintetizan en el hígado a partir del colesterol.
    B. Los ácidos biliares son necesarios para la descomposición de las grasas por la lipasa pancreática.
    C. Los ácidos biliares secundarios se producen por modificación de los ácidos biliares primarios en el hígado.
    D. Los ácidos biliares facilitan la absorción de los productos de la digestión de lípidos en el yeyuno.
    E. Los ácidos biliares se recirculan entre el hígado y el intestino delgado en la circulación enterohepática.
29. Un hombre de 35 años con hipercolesterolemia severa tiene antecedentes familiares de muertes a una edad temprana por enfermedad cardiaca y accidente cerebrovascular. ¿Cuál de los siguientes genes es probable que sea defectuoso?
    A. Apolipoproteína E.
    B. El receptor de LDL.
    C. Lipoproteína lipasa.
    D. *PCSK9*.
    E. LCAT.
30. La proteína recientemente descubierta, la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), ha sido identificada como un objetivo potencial para los medicamentos antiaterogénicos PORQUE:
    A. Disminuye el número de receptores de LDL expuestos en la superficie celular, por lo que la captación de LDL disminuye y los niveles de colesterol en la sangre aumentan.
    B. Inhibe la unión de apo B al receptor de LDL, bloqueando así la captación de la lipoproteína y elevando los niveles de colesterol en la sangre.
    C. Aumenta la absorción de colesterol del intestino.
    D. Previene la descomposición del colesterol a ácidos biliares en el hígado.
    E. Aumenta la síntesis y la secreción de VLDL en el hígado, lo que lleva a una mayor formación de LDL en la sangre.

SECCIÓN

VI

Metabolismo de proteínas y aminoácidos

CAPÍTULO

27

Biosíntesis de los aminoácidos nutricionalmente no esenciales

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar por qué la ausencia en la dieta de ciertos aminoácidos que están presentes en la mayoría de las proteínas no es perjudicial para la salud humana.
- Apreciar la distinción entre los términos aminoácidos "esenciales" y "nutricionalmente esenciales" e identificar los aminoácidos que son nutricionalmente no esenciales.
- Nombrar los compuestos intermedios del ciclo del ácido cítrico y de la glucólisis que son precursores de aspartato, asparagina, glutamato, glutamina, glicina y serina.
- Ilustrar el papel clave de las transaminasas en el metabolismo de los aminoácidos.
- Explicar el proceso por el cual se forman 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina de proteínas como el colágeno.
- Describir la presentación clínica del escorbuto y brindar una explicación bioquímica de por qué una falta severa de vitamina C (ácido ascórbico) resulta en este trastorno nutricional.
- Apreciar que, a pesar de la toxicidad del selenio, la selenocisteína es un componente esencial de varias proteínas de mamíferos.
- Definir y delinear la reacción catalizada por una oxidasa de función mixta.
- Identificar el papel de la tetrahidrobiopterina en la biosíntesis de la tirosina.
- Indicar el papel de un RNA de transferencia modificada (tRNA, *transfer RNA*) en la inserción cotraduccional de selenocisteína en proteínas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los estados de deficiencia de aminoácidos pueden resultar si los aminoácidos nutricionalmente esenciales están ausentes de la dieta, o si están presentes en cantidades inadecuadas. Los ejemplos en ciertas regiones de África occidental incluyen el **kwashiorkor**, que resulta cuando un niño es destetado con una dieta rica en almidón pobre en proteínas, y el **marasmo**, en el que tanto la ingesta calórica

como los aminoácidos específicos son deficientes. Los pacientes con síndrome de intestino corto que no pueden absorber cantidades suficientes de calorías y nutrientes sufren de importantes anomalías nutricionales y metabólicas. Tanto el trastorno nutricional **escorbuto**, una deficiencia dietética de vitamina C y como los trastornos genéticos específicos están asociados con una capacidad alterada del tejido conjuntivo para formar peptidil 4-hidroxiprolina y peptidil 5-hidroxilisina. La inestabilidad conformacional resultante del colágeno se acompaña de encías sangrantes, hinchazón de las articulaciones, mala cicatrización de heridas y, finalmente, en la muerte. El **síndrome de Menkes**, caracterizado por cabello crespo y retraso del crecimiento, resulta de una deficiencia dietética de cobre, un cofactor esencial para la enzima lisil oxidasa que funciona en la formación de los enlaces cruzados covalentes que fortalecen las fibras de colágeno. Los trastornos genéticos de la biosíntesis de colágeno incluyen varias formas de **osteogénesis imperfecta**, caracterizada por huesos frágiles, y el **síndrome de Ehlers-Danlos**, un grupo de trastornos del tejido conectivo que producen articulaciones móviles y anomalías cutáneas debido a defectos en los genes que codifican enzimas, incluida la procolágeno-lisina 5-hidroxilasa.

AMINOÁCIDOS NUTRICIONALMENTE ESENCIALES Y NUTRICIONALMENTE NO ESENCIALES

Aunque a menudo se emplean con referencia a los aminoácidos, los términos "esencial" y "no esencial" son engañosos ya que los 20 aminoácidos comunes son esenciales para garantizar la salud. De estos 20 aminoácidos, 8 *deben* estar presentes en la dieta humana, y por tanto se denominan mejor "*nutricionalmente esenciales*". Los otros 12 aminoácidos son "*nutricionalmente no esenciales*" ya que no necesitan estar presentes en la dieta (**cuadro 27-1**). La distinción entre estas dos clases de aminoácidos se estableció en la década de 1930 al alimentar a los humanos con aminoácidos purificados en lugar de proteínas. Las investigaciones bioquímicas posteriores revelaron las reacciones e intermediarios implicados en la biosíntesis de los 20 aminoácidos. Los trastornos por deficiencia de aminoácidos son endémicos en ciertas regiones de África occidental donde las dietas dependen en gran medida de granos que son fuentes pobres de triptófano y lisina. Estos trastornos nutricionales incluyen el **kwashiorkor**, que resulta cuando un niño es destetado con una dieta rica en almidón pobre en proteínas, y el **marasmo**, en el que tanto la ingesta calórica como los aminoácidos específicos son deficientes.

CUADRO 27-1 Requisitos de aminoácidos de los seres humanos

Nutricionalmente esencial	Nutricionalmente no esencial
Arginina[a]	Alanina
Histidina	Asparagina
Isoleucina	Aspartato
Leucina	Cisteína
Lisina	Glutamato
Metionina	Glutamina
Fenilalanina	Glicina
Treonina	Hidroxiprolina[b]
Triptófano	Hidroxilisina[b]
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

[a] Nutricionalmente "semiesencial". Sintetizado a tasas inadecuadas para apoyar el crecimiento de los niños.
[b] No es necesario para la síntesis de proteínas, pero se forma durante el procesamiento postraduccional del colágeno.

CUADRO 27-2 Enzimas requeridas para la síntesis de aminoácidos de compuestos intermedios anfibólicos

Número de enzimas necesarias para sintetizar			
Nutricionalmente esencial		**Nutricionalmente no esencial**	
Arg[a]	7	Ala	1
His	6	Asp	1
Thr	6	Asn[b]	1
Met	5(4 compartidos)	Glu	1
Lys	8	Gln[a]	1
Ile	8 (6 compartidos)	Hyl[c]	1
Val	6 (todos compartidos)	Hyp[d]	1
Leu	7 (5 compartidos)	Pro[a]	3
Phe	10	Ser	3
Trp	5 (8 compartidos)	Gly[e]	1
	59 (total)	Cys[f]	2
		Tyr[g]	1
			17 (total)

[a] De Glu.
[b] De Asp.
[c] De Lys.
[d] De Pro.
[e] De Ser.
[f] De ser más sulfato.
[g] De Phe.

Las vías metabólicas largas forman los aminoácidos nutricionalmente esenciales

La existencia de requisitos nutricionales sugiere que la dependencia de un suministro externo de un nutriente dado puede ser de mayor valor de supervivencia que la capacidad de biosintetizarlo. ¿Por qué? Si un nutriente específico está presente en el alimento, un organismo que puede sintetizarlo transferirá a su progenie información genética de valor de supervivencia *negativo*. El valor de supervivencia es negativo en lugar de nulo porque se requieren trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) y nutrientes para sintetizar ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*) "innecesario", incluso si los genes específicos codificados ya no se expresan. El número de enzimas requeridas por las células procariotas para sintetizar los aminoácidos nutricionalmente esenciales es grande en relación con la cantidad de enzimas necesarias para sintetizar los aminoácidos nutricionalmente no esenciales (**cuadro 27-2**). Esto sugiere una ventaja de supervivencia al retener la capacidad de fabricar aminoácidos "fáciles" mientras se

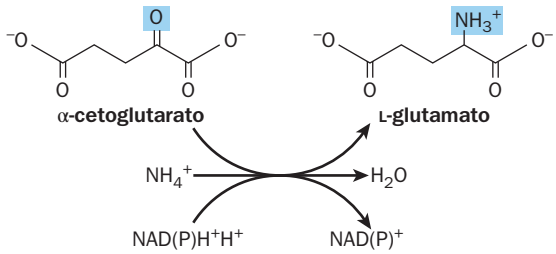


FIGURA 27-1 **La reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa (EC 1.4.1.3).**

pierde la capacidad de producir aminoácidos "difíciles". Las vías metabólicas que forman los aminoácidos nutricionalmente esenciales se producen en las plantas y las bacterias, pero no en los seres humanos, y por tanto no son discutidas. Este capítulo aborda las reacciones e intermediarios implicados en la biosíntesis por los tejidos humanos de los 12 aminoácidos nutricionalmente *no esenciales* y los trastornos nutricionales y metabólicos seleccionados asociados con su metabolismo.

BIOSÍNTESIS DE LOS AMINOÁCIDOS NUTRICIONALMENTE NO ESENCIALES

Glutamato

El glutamato, el precursor de la llamada "familia del glutamato" de los aminoácidos, se forma por la amidación reductiva del ciclo del ácido cítrico α-cetoglutarato, una reacción catalizada por glutamato deshidrogenasa mitocondrial (**figura 27-1**). La reacción favorece fuertemente la síntesis de glutamato, lo que reduce la concentración de ion amonio citotóxico.

Glutamina

La amidación de glutamato a glutamina catalizada por glutamina sintetasa (**figura 27-2**) implica la formación intermedia de fosfato de γ-glutamil (**figura 27-3**). Después de la unión ordenada de glutamato y ATP, el glutamato ataca el γ-fósforo de ATP, formando γ-glutamil fosfato y ADP. El NH_4^+ se une y el NH_3 no cargado ataca el fosfato de γ-glutamil. La liberación de P_i y de un protón del grupo γ-amino del intermediario tetraédrico permite la liberación del producto, la glutamina.

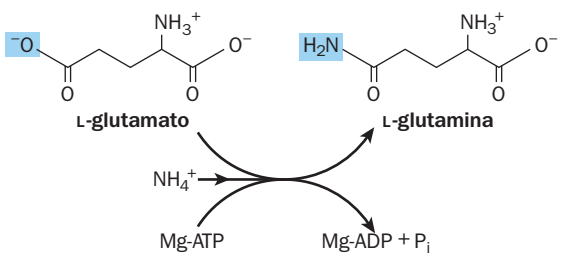


FIGURA 27-2 **La reacción catalizada por la glutamina sintetasa (EC 6.3.1.2).**

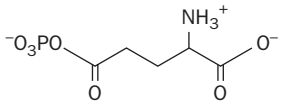


FIGURA 27-3 **γ-glutamil fosfato.**

Alanina y aspartato

La transaminación de piruvato forma alanina (**figura 27-4**). Del mismo modo, la transaminación de oxaloacetato forma aspartato.

Glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y aminotransferasas desempeñan papeles centrales en la biosíntesis de aminoácidos

La acción combinada de las enzimas glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y las aminotransferasas (figuras 27-1, 27-2 y 27-4) da como resultado la conversión de ion amonio inorgánico en el nitrógeno α-amino de aminoácidos.

Asparagina

La conversión de aspartato a asparagina, catalizada por la asparagina sintetasa (**figura 27-5**), se asemeja a la reacción glutamina sintetasa (figura 27-2), pero la glutamina, en lugar del ion amonio, proporciona el nitrógeno. Las asparaginas sintetasas bacterianas pueden, sin embargo, usar también ion amonio. La reacción implica la formación intermedia de fosfato de aspartilo (**figura 27-6**). La hidrólisis acoplada de PP_i a P_i mediante pirofosfatasa, EC 3.6.1.1, asegura que la reacción se favorece fuertemente.

Serina

La oxidación del grupo α-hidroxilo del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato, catalizada por 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, la convierte en 3-fosfohidroxipiruvato. La transaminación y la desfosforilación posterior forman luego serina (**figura 27-7**).

Glicina

La glicina aminotransferasa puede catalizar la síntesis de glicina a partir de glioxilato y glutamato o alanina. A diferencia de la mayoría de las reacciones de aminotransferasas, estas favorecen fuertemente la síntesis de glicina. Otras rutas importantes de mamíferos para la formación de glicina son la colina (**figura 27-8**) y la serina (**figura 27-9**).

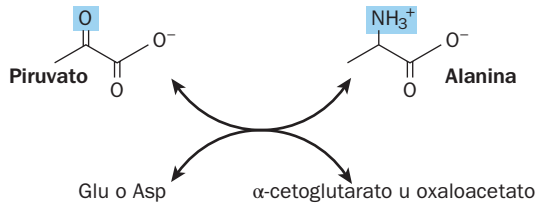


FIGURA 27-4 **Formación de alanina por transaminación de piruvato**. El donador de amino puede ser glutamato o aspartato. El otro producto es, por tanto, α-cetoglutarato u oxaloacetato.

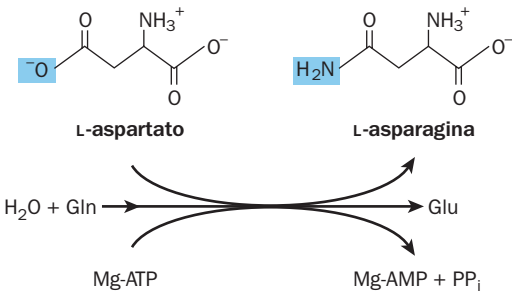


FIGURA 27-5 La reacción catalizada por la asparagina sintetasa (EC 6.3.5.4). Tenga en cuenta las similitudes y diferencias con la reacción de la glutamina sintetasa (figura 27-2).

Prolina

La reacción inicial de la biosíntesis de prolina convierte el grupo γ-carboxilo del glutamato en el ácido anhídrido mixto del glutamato γ-fosfato (figura 27-3). La reducción posterior forma glutamato γ-semialdehído, que después de la ciclación espontánea se reduce a L-prolina (**figura 27-10**).

Cisteína

Aunque no es nutricionalmente esencial, la cisteína se forma a partir de la metionina, que es nutricionalmente esencial. Después de la conversión de metionina a homocisteína (véase figura 29-18), la homocisteína y la serina forman cistationina, cuya hidrólisis forma cisteína y homoserina (**figura 27-11**).

Tirosina

La fenilalanina hidroxilasa convierte la fenilalanina en tirosina (**figura 27-12**). Si la dieta contiene cantidades adecuadas del aminoácido nutricionalmente esencial fenilalanina, la tirosina es nutricionalmente no esencial. Sin embargo, dado que la reacción de la fenilalanina hidroxilasa es irreversible, la tirosina en la dieta no puede reemplazar a la fenilalanina. La catálisis por esta oxidasa de función mixta incorpora un átomo de O_2 en la posición *para* de fenilalanina y reduce el otro átomo a agua. La potencia reductora, proporcionada como tetrahidrobiopterina, se deriva en última instancia de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*)

Hidroxiprolina e hidroxilisina

La hidroxiprolina e hidroxilisina ocurren principalmente en el colágeno. Dado que no hay tRNA para ninguno de los aminoácidos hidroxilados, ni la hidroxiprolina dietética ni la hidroxilisina en la dieta se incorporan durante la síntesis de proteínas. La peptidil hidroxiprolina y la hidroxilisina surgen de la prolina y la lisina, pero sólo después de que estos aminoácidos se hayan incorporado

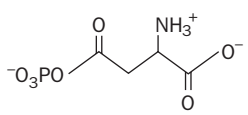


FIGURA 27-6 Aspartilo fosfato.

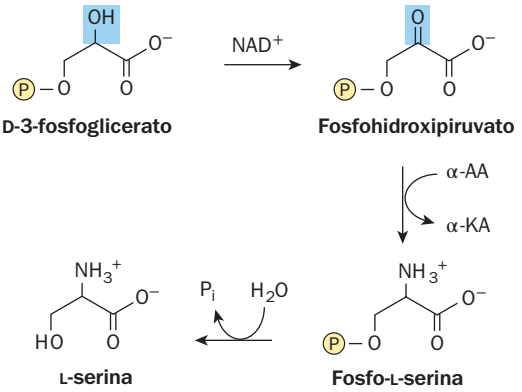


FIGURA 27-7 Biosíntesis de serina. La oxidación de 3-fosfoglicerato es catalizada por 3-fosfoglicerato deshidrogenasa (EC 1.1.1.95). La transaminación convierte el fosfohidroxipiruvato en fosfoserina. La eliminación hidrolítica del grupo fosforilo catalizado por fosfoserina hidrolasa (EC 3.1.3.3) luego forma L-serina.

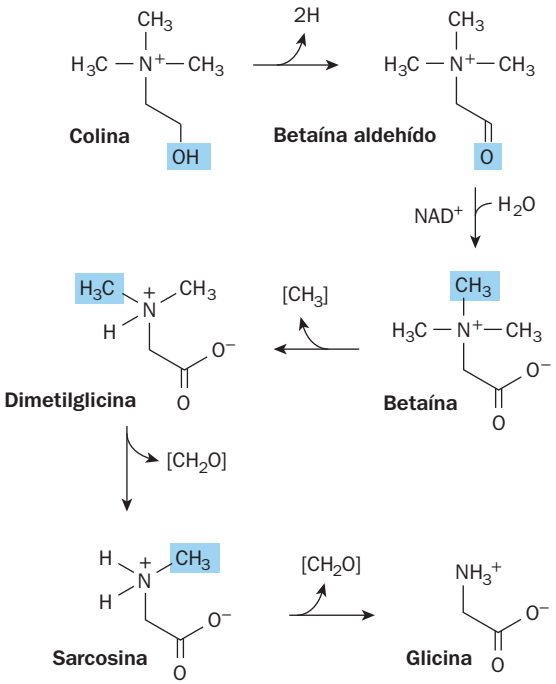


FIGURA 27-8 Formación de glicina a partir de colina. Los catalizadores incluyen colina deshidrogenasa (EC 1.1.3.17), betaína aldehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.8), betaína-homocisteína *N*-metiltransferasa (EC 2.1.1.157), sarcosina deshidrogenasa (EC 1.5.8.3) y dimetilglicina deshidrogenasa (EC 1.5.8.4).

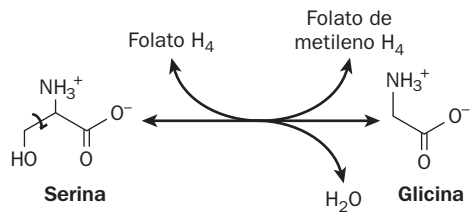


FIGURA 27-9 Interconversión de serina y glicina, catalizada por serina hidroximetiltransferasa (EC 2.1.2.1). La reacción es libremente reversible. (H_4 folato, tetrahidrofolato).

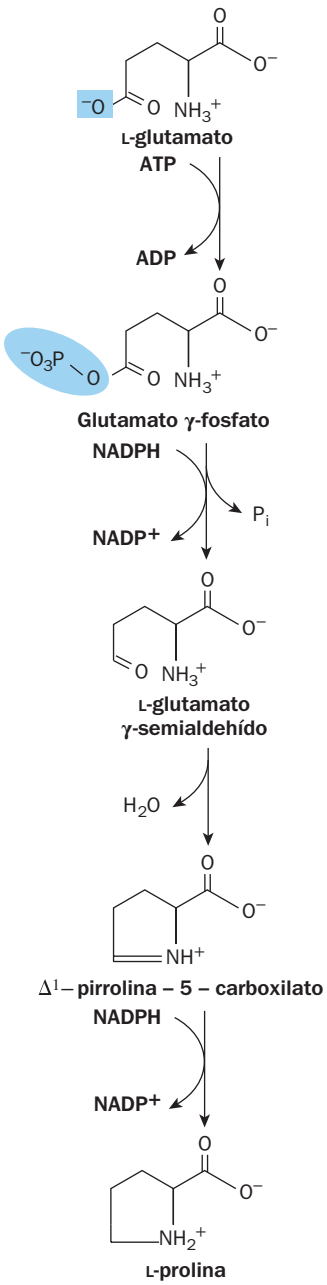


FIGURA 27-10 **Biosíntesis de prolina a partir de glutamato**. Los catalizadores para estas reacciones son la glutamato-5-quinasa (EC 2.7.2.11), la glutamato-5-semialdehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.41) y la pirrolina-5-carboxilato reductasa (EC 1.5.1.2). El cierre de anillo del glutamato semialdehído es espontáneo.

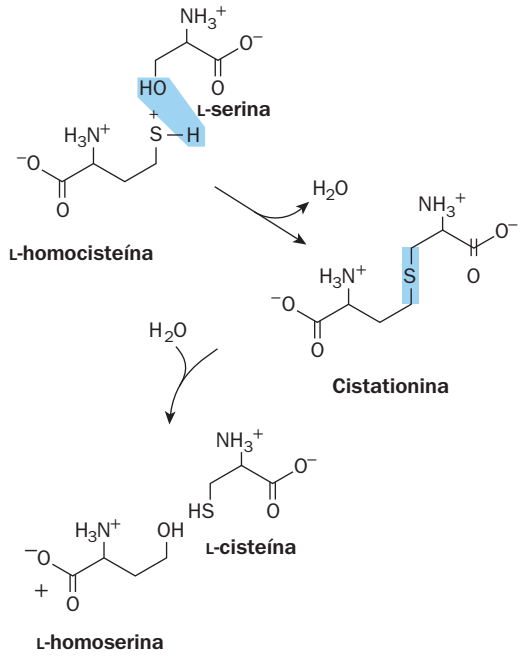


FIGURA 27-11 **Conversión de homocisteína y serina en homoserina y cisteína.** El azufre de la cisteína se deriva de la metionina y el esqueleto de carbono de la serina. Los catalizadores son cistationina β-sintasa (EC 4.2.1.22) y cistationina γ-liasa (EC 4.4.1.1).

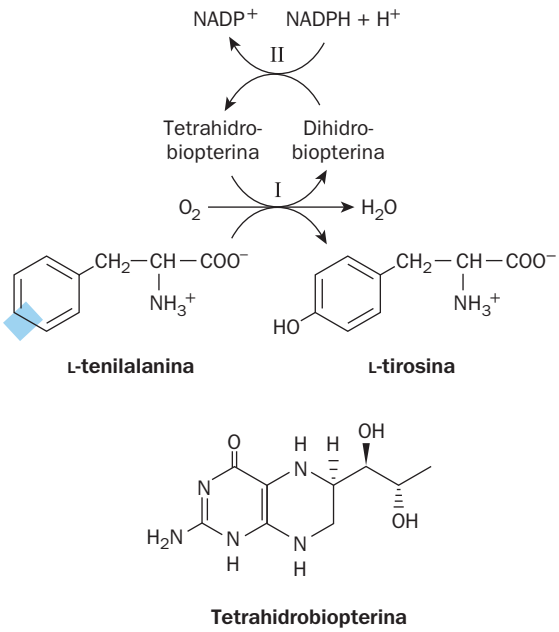


FIGURA 27-12 **Conversión de fenilalanina en tirosina por fenilalanina hidroxilasa (EC 1.14.16.1).** Dos actividades enzimáticas distintas están involucradas. La actividad II cataliza la reducción de dihidrobiopterina por NADPH, y la actividad I la reducción de O_2 a H_2O y de fenilalanina a tirosina. Esta reacción está asociada con varios defectos del metabolismo de la fenilalanina discutidos en el capítulo 29.

a los péptidos. La hidroxilación de residuos de peptidil prolil y peptidil lisil, catalizada por **prolil hidroxilasa** y **lisil hidroxilasa** de piel, músculo esquelético y heridas de granulación requiere, además del sustrato, O_2 molecular, ascorbato, Fe^{2+} y α-cetoglutarato (**figura 27-13**). Por cada mol de prolina o lisina hidroxilada, un mol de α-cetoglutarato se descarboxila a succinato. Las hidroxilasas son oxidasas de función mixta. Un átomo de O_2 se incorpora en prolina o lisina, y el otro en succinato (figura 27-13). Una deficiencia de la vitamina

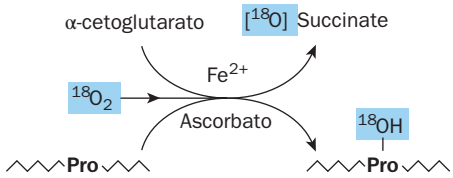


FIGURA 27-13 Hidroxilación de un péptido rico en prolina. El oxígeno molecular se incorpora tanto a succinato como a prolina. El procolágeno-prolina 4-hidroxilasa (EC 1.14.11.2) es por tanto una oxidasa de función mixta. El procolágeno-lisina 5-hidroxilasa (EC 1.14.11.4) cataliza una reacción análoga.

C requerida para estas dos hidroxilasas provoca **escorbuto**, en el que el sangrado de las encías, inflamación de las articulaciones y el trastorno en la cicatrización de la herida resultan del deterioro de la estabilidad del colágeno (véanse capítulos 5 y 50).

Valina, leucina e isoleucina

Si bien la leucina, la valina y la isoleucina son todos aminoácidos nutricionalmente esenciales, las aminotransferasas tisulares interconvierten de forma reversible los tres aminoácidos y sus α-cetoácidos correspondientes. Estos α-cetoácidos pueden reemplazar sus aminoácidos en la dieta.

Selenocisteína, el 21º aminoácido

Aunque la aparición de selenocisteína (**figura 27-14**) en proteínas es poco común, se conocen al menos 25 selenoproteínas humanas. La selenocisteína está presente en el sitio activo de varias enzimas humanas que catalizan reacciones redox. Los ejemplos incluyen la tiorredoxina reductasa, la glutatión peroxidasa y la desiodinasa que convierte la tiroxina en triiodotironina.

Cuando está presente, la selenocisteína participa en el mecanismo catalítico de estas enzimas. Significativamente, el reemplazo de la selenocisteína por cisteína puede realmente *reducir* la actividad catalítica. Las alteraciones en las selenoproteínas humanas han sido implicadas en tumorigénesis y aterosclerosis, y están asociados con la miocardiopatía por deficiencia de selenio (enfermedad de Keshan).

La biosíntesis de selenocisteína requiere serina, selenato (SeO_4^{2-}), ATP, un tRNA específico y varias enzimas. La serina proporciona el esqueleto de carbono de la selenocisteína. El selenofosfato, formado a partir de ATP y selenato (figura 27-14), sirve como donante de selenio. A diferencia de la 4-hidroxiprolina o la 5-hidroxilisina, la selenocisteína surge *cotraduccionalmente* durante su incorporación a los péptidos. El anticodón UGA del tRNA inusual llamado $tRNA^{Sec}$ normalmente indica STOP. La capacidad del aparato sintético de proteínas para identificar un codón UGA específico de selenocisteína implica el elemento de inserción de selenocisteína, una estructura de tallo-bucle en la región no traducida del mRNA. El $tRNA^{Sec}$ primero se carga con serina por la ligasa que carga $tRNA^{Ser}$. La sustitución posterior del oxígeno de serina por selenio implica selenofosfato formado por la selenofosfato sintetasa (figura 27-14). Las sucesivas reacciones catalizadas por enzimas convierten cisteil-$tRNA^{Sec}$ en aminoacrilil-$tRNA^{Sec}$ y luego en selenocisteil-$tRNA^{Sec}$. En presencia de un factor de elongación específico que reconoce selenocisteil-$tRNA^{Sec}$, la selenocisteína puede entonces incorporarse a las proteínas.

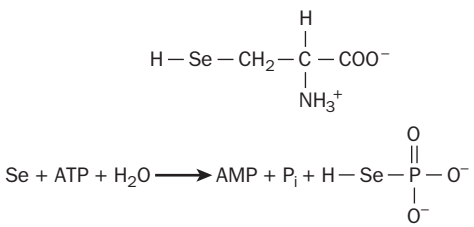


FIGURA 27-14 Selenocisteína (arriba) y la reacción catalizada por la selenofosfato sintetasa (EC 2.7.9.3) (abajo).

RESUMEN

- Todos los vertebrados pueden formar ciertos aminoácidos a partir de compuestos intermedios anfibólicos o de otros aminoácidos de la dieta. Los compuestos intermedios y los aminoácidos a los que dan lugar son α-cetoglutarato (Glu, Gln, Pro, Hyp), oxaloacetato (Asp, Asn) y 3-fosfoglicerato (Ser, Gly).
- La cisteína, la tirosina y la hidroxilisina se forman a partir de aminoácidos nutricionalmente esenciales. La serina proporciona el esqueleto de carbono y la homocisteína el azufre para la biosíntesis de cisteína.
- En el escorbuto, una enfermedad nutricional que resulta de una deficiencia de vitamina C, la hidroxilación alterada de peptidil prolina y peptidil lisina resulta en una falla para proporcionar los sustratos para la reticulación de colágenos en maduración.
- La fenilalanina hidroxilasa convierte la fenilalanina en tirosina. Dado que la reacción catalizada por esta función mixta oxidasa es irreversible, la tirosina no puede dar lugar a la fenilalanina.
- Ni la hidroxiprolina dietética ni la hidroxilisina se incorporan en las proteínas porque ningún codón o tRNA dicta su inserción en los péptidos.
- La peptidil hidroxiprolina y la hidroxilisina se forman por hidroxilación de peptidil prolina o lisina en reacciones catalizadas por oxidasas de función mixta que requieren vitamina C como cofactor.
- La selenocisteína, un residuo del sitio activo esencial en varias enzimas de mamíferos, surge por inserción cotraduccional de un tRNA previamente modificado.

REFERENCIAS

Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol* 2005;184:455.

Bender DA. *Amino Acid Metabolism*. 3a. ed. Wiley;2012.

Donovan J, Copeland PR. The efficiency of selenocysteine incorporation is regulated by translation initiation factors. *J Mol Biol* 2010;400:659.

Kilberg MS. Asparagine synthetase chemotherapy. *Annu Rev Biochem* 2006;75:629.

Ruzzo EK, Capo-Chichi JM, Ben-Zeev B, *et al*. Deficiency of asparagines synthetase causes congenital microcephaly and a progressive form of encephalopathy. *Neuron* 2013;80:429.

Stickel F, Inderbitzin D, Candinas D. Role of nutrition in liver transplantation for end-stage chronic liver disease. *Nutr Rev* 2008;66:47.

Turanov AA, Shchedrina VA, Everley RA, *et al*. Selenoprotein S is involved in maintenance and transport of multiprotein complexes. *Biochem J* 2014;462:555.

CAPÍTULO

28

Catabolismo de proteínas y del nitrógeno de los aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir el recambio de proteínas, indicar la tasa media de recambio proteico en individuos sanos, y brindar ejemplos de proteínas humanas que se degradan a tasas mayores que la tasa media.
- Describir los eventos en el recambio de proteínas por las vías dependientes e independientes del trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) e indicar las funciones desempeñadas en la degradación de las proteínas por el proteosoma, la ubiquitina, los receptores de la superficie celular, las asialoglucoproteínas circulantes y los lisosomas.
- Indicar cómo los productos finales del catabolismo del nitrógeno en los mamíferos difieren de los de aves y peces.
- Ilustrar las funciones centrales de las transaminasas (aminotransferasas), de la glutamato deshidrogenasa y de la glutaminasa en el metabolismo del nitrógeno humano.
- Usar fórmulas estructurales para representar las reacciones que convierten el NH_3, el CO_2 y el nitrógeno amídico del aspartato en urea, e identificar las ubicaciones subcelulares de las enzimas que catalizan la biosíntesis de la urea.
- Indicar los papeles de la regulación alostérica y del acetilglutamato en la regulación de los primeros pasos en la biosíntesis de la urea.
- Explicar por qué los defectos metabólicos en diferentes enzimas de la biosíntesis de la urea, aunque distintos a nivel molecular, presentan signos y síntomas clínicos similares.
- Describir los enfoques clásicos y el papel de la espectrometría de masas en tándem en el pesquisaje de las enfermedades metabólicas hereditarias en neonatos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En adultos normales, la ingesta de nitrógeno coincide con el nitrógeno excretado. El balance positivo de nitrógeno, un exceso de ingesta sobre el nitrógeno excretado, acompaña el crecimiento y el embarazo. El balance negativo de nitrógeno, donde la salida excede la ingesta, puede seguir a la cirugía, cáncer avanzado, y los trastornos nutricionales kwashiorkor y marasmo. Los trastornos genéticos que resultan de defectos en los genes que codifican a la ubiquitina, las ligasas de la ubiquitina, o las enzimas desubiquitinantes que participan en la degradación de ciertas proteínas, incluyen el síndrome de Angelman, la enfermedad de Parkinson juvenil, el síndrome de Von Hippel-Lindau y la policitemia congénita. Este capítulo describe cómo el nitrógeno de los aminoácidos se convierte en urea, y los trastornos metabólicos que acompañan a los defectos en este proceso. El amoniaco, que es altamente tóxico, surge en los humanos principalmente a partir del nitrógeno α-amino de los aminoácidos. Por tanto, los tejidos convierten el amoniaco en el nitrógeno amídico del aminoácido no tóxico glutamina. La posterior desaminación de la glutamina en el hígado libera amoniaco, que se convierte de forma eficiente en urea, que no es tóxica. Sin embargo, si la función hepática está comprometida, como en la cirrosis o la hepatitis, los niveles elevados de amoniaco en la sangre generan signos y síntomas clínicos. Cada enzima del ciclo de la urea proporciona ejemplos de defectos metabólicos y de sus consecuencias fisiológicas. Además, el ciclo de la urea proporciona un modelo molecular útil para el estudio de otros defectos metabólicos humanos.

RECAMBIO PROTEICO

La degradación y síntesis (renovación) continua de las proteínas celulares se produce en todas las formas de vida. Cada día los humanos obtienen alrededor de 1 a 2% de la proteína corporal total, principalmente proteína muscular. Se producen altas velocidades de degradación de proteínas en los tejidos que se someten a una reorganización estructural, por ejemplo, en el tejido uterino durante el embarazo, en el músculo esquelético en estado de inanición, y en el tejido de cola del renacuajo durante la metamorfosis. Mientras que aproximadamente 75% de los aminoácidos liberados por la degradación de proteínas se reutilizan, el exceso restante de aminoácidos libres no se almacena para un uso futuro. Los aminoácidos que no se incorporan inmediatamente a la nueva proteína se degradan rápidamente. La mayor parte de los esqueletos de carbono de los aminoácidos se convierte en intermediarios anfibólicos, mientras que en los humanos el nitrógeno amino se convierte en urea y se excreta en la orina.

LAS PROTEASAS Y LAS PEPTIDASAS DEGRADAN LAS PROTEÍNAS HACIA AMINOÁCIDOS

La susceptibilidad relativa de una proteína a la degradación se expresa como su **vida media ($t_{1/2}$)**, el tiempo requerido para reducir su concentración a la mitad de su valor inicial. Las vidas medias de las proteínas hepáticas oscilan entre menos de 30 minutos y más de 150 horas. Las enzimas típicas de "mantenimiento" como las de la glucólisis, tienen valores $t_{1/2}$ de más de 100 horas. Por el contrario, las enzimas reguladoras clave pueden tener valores $t_{1/2}$ tan bajos como de 0.5 a 2 horas. Las secuencias PEST, regiones ricas en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), se dirigen a algunas proteínas para una degradación rápida. Las proteasas intracelulares hidrolizan los enlaces peptídicos internos. Los péptidos resultantes son luego degradados a aminoácidos por endopeptidasas que hidrolizan enlaces peptídicos internos, y por aminopeptidasas y carboxipeptidasas que eliminan aminoácidos en sucesión de los extremos amino y carboxilo, respectivamente.

Degradación independiente de ATP

La degradación de las glucoproteínas sanguíneas (véase capítulo 46) sigue a la pérdida de un resto de ácido siálico de los extremos no reductores de sus cadenas de oligosacáridos. Las asialoglucoproteínas son luego internalizadas por los receptores de asialoglucoproteína de las células hepáticas, y degradadas por proteasas lisosómicas. Las proteínas extracelulares asociadas a la membrana, y las intracelulares de larga vida, también se degradan en los lisosomas por procesos independientes de ATP.

Degradación dependiente de ATP y ubiquitina

La degradación de las proteínas reguladoras con vidas medias cortas y de proteínas anormales, o mal plegadas, tiene lugar en el citosol y requiere de ATP y **ubiquitina**. Denominada con base en su presencia en todas las células eucariotas preferiblemente, la ubiquitina es un polipéptido pequeño (8.5 kDa, 76 residuos) que se dirige a muchas proteínas intracelulares para su degradación. La estructura primaria de la ubiquitina se preserva mucho. Sólo 3 de 76 residuos difieren entre la levadura y la ubiquitina humana. La

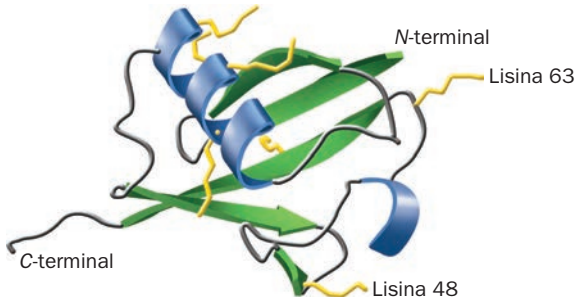


FIGURA 28-1 Estructura tridimensional de la ubiquitina. Se muestran las hélices α (azul), las cadenas β (verde) y los grupos R de los residuos lisilo (naranja). Los Lys48 y Lys63 son sitios para la unión de moléculas de ubiquitina adicionales durante la poliubiquitinización. Creado por Rogerdodd en Wikipedia usando PyMOL, PDB id 1ubi, y acreditando al European Bioinformatics Institute.

figura 28-1 ilustra la estructura tridimensional de la ubiquitina. Las moléculas de ubiquitina están unidas por **enlaces no α-peptídicos**, formados entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y los grupos ε-amino de los residuos lisilo en la proteína blanco (**figura 28-2**). El

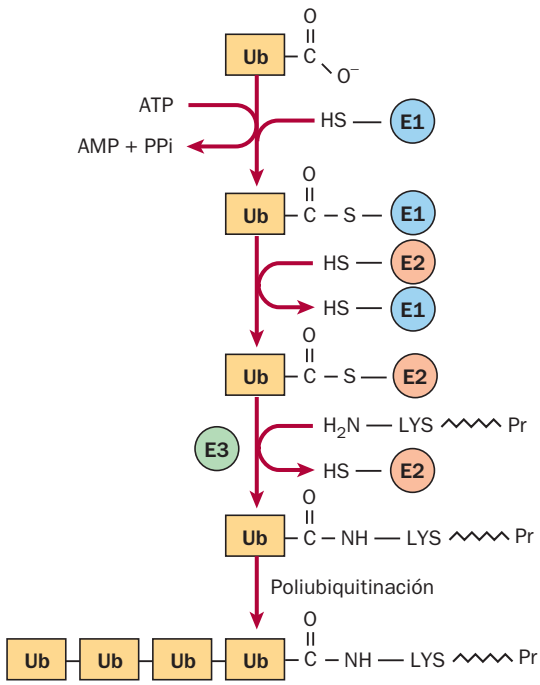


FIGURA 28-2 Reacciones implicadas en la unión de Ub (*ubiquitin*): ubiquitina a las proteínas. Tres enzimas están involucradas. La E1 es una enzima activadora, la E2 una transferasa y la E3 una ligasa. Si bien se representan como entidades únicas, existen varios tipos de E1 y más de 500 tipos de E2. El COOH terminal de la ubiquitina forma primero un tioéster. La hidrólisis acoplada de pirofosfato inorgánico, (PP_i, *inorganic pyrophosphate*) mediante pirofosfatasa asegura que la reacción transcurrirá fácilmente. Una reacción de intercambio de tioéster ahora transfiere ubiquitina activada a E2. Luego E3 cataliza la transferencia de ubiquitina al grupo ε-amino de un residuo de lisilo de la proteína blanco. Rondas adicionales de ubiquitinación dan como resultado una poliubiquitinación posterior.

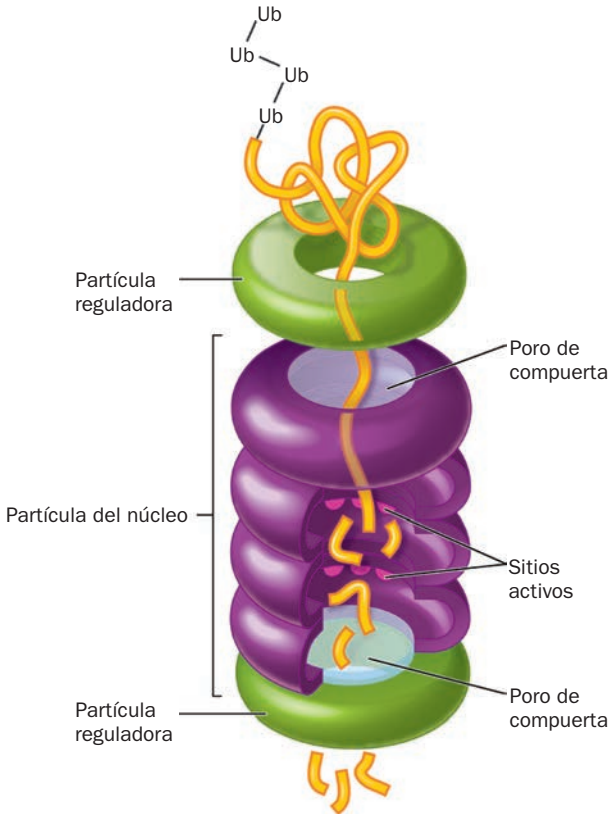


FIGURA 28-3 **Representación de la estructura de un proteosoma.** El anillo superior está cerrado para permitir que sólo las proteínas poliubiquitinadas entren en el proteosoma, donde las proteasas internas inmovilizadas las degradan a péptidos.

residuo presente en su terminal amino se afecta si una proteína está ubiquitinada. Los residuos amino terminales Met o Ser retardan la ubiquitinación, mientras que los Asp o Arg la aceleran. La unión de una sola molécula de ubiquitina a las proteínas transmembrana altera su localización subcelular, y las dirige a la degradación. Las proteínas solubles se someten a **poliubiquitinización,** la unión catalizada por ligasa de cuatro o más moléculas adicionales de ubiquitina (figura 28-1). La posterior degradación de las proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el **proteosoma**, una macromolécula que también es ubicua en las células eucariotas. El proteosoma consiste en un complejo macromolecular cilíndrico de proteínas, cuyos anillos apilados forman un poro central que alberga los sitios activos de las enzimas proteolíticas. Para la degradación, una proteína debe ingresar primero en el poro central. La entrada al núcleo está regulada por los dos anillos externos que reconocen las proteínas poliubiquitinadas (**figuras 28-3** y **28-4**).

Por el descubrimiento de la degradación proteica mediada por la ubiquitina, Aaron Ciechanover y Avram Hershko, de Israel, e Irwin Rose de Estados Unidos, recibieron el Premio Nobel de Química 2004. Los trastornos genéticos que resultan de defectos en los genes que codifican la ubiquitina, ubiquitina ligasas, o las enzimas desubiquitinantes, incluyen el síndrome de Angelman, la enfermedad de Parkinson autosómica recesiva juvenil, el síndrome de Von Hippel-Lindau, y la policitemia congénita. Para aspectos adicionales de la degradación de proteínas y de la ubiquitinación, incluido su papel en el ciclo celular, véanse los capítulos 4 y 35.

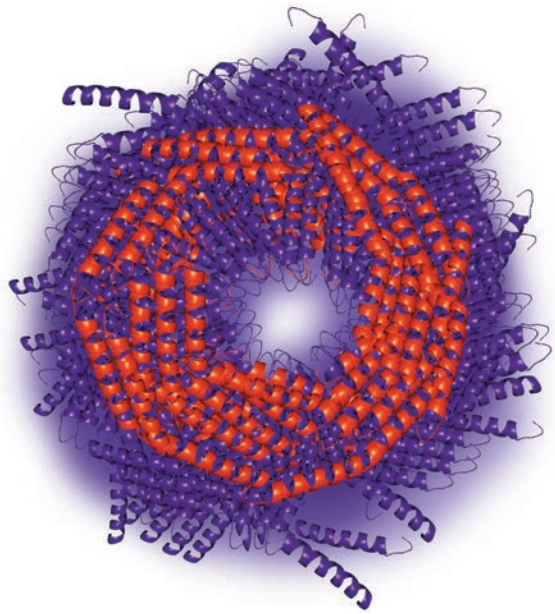


FIGURA 28-4 **Vista superior anterior de un proteosoma.** Creado por Rogerdodd en Wikipedia y acreditando al European Bioinformatics Institute.

EL INTERCAMBIO INTERÓRGANOS MANTIENE NIVELES CIRCULANTES DE AMINOÁCIDOS

El mantenimiento de concentraciones estables de aminoácidos circulando en el plasma entre las comidas depende del equilibrio neto entre la liberación de depósitos de proteínas endógenas, y de su uso por diversos tejidos. El músculo genera más de la mitad del conjunto corporal total de aminoácidos libres, y el hígado es el sitio necesario de las enzimas del ciclo de la urea para eliminar el exceso de nitrógeno. El músculo y el hígado juegan un papel importante en el mantenimiento de los niveles circulantes de aminoácidos.

La figura 28-5 resume el estado de posabsorción. Los aminoácidos libres, particularmente la alanina y la glutamina, se liberan

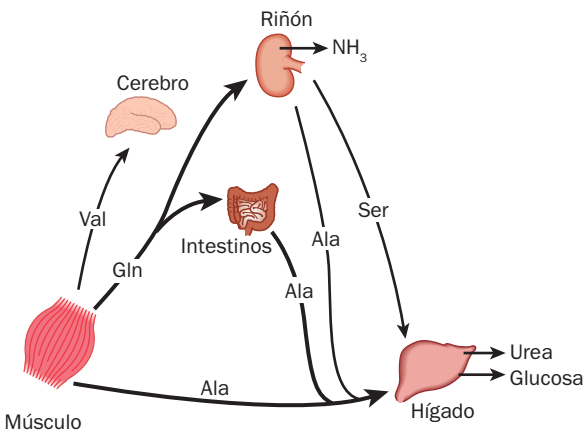


FIGURA 28-5 **Intercambio de aminoácidos interorgánicos en humanos posabsortivos normales**. Se muestra el papel clave de la alanina en la producción de aminoácidos del músculo y el intestino, y la absorción por el hígado.

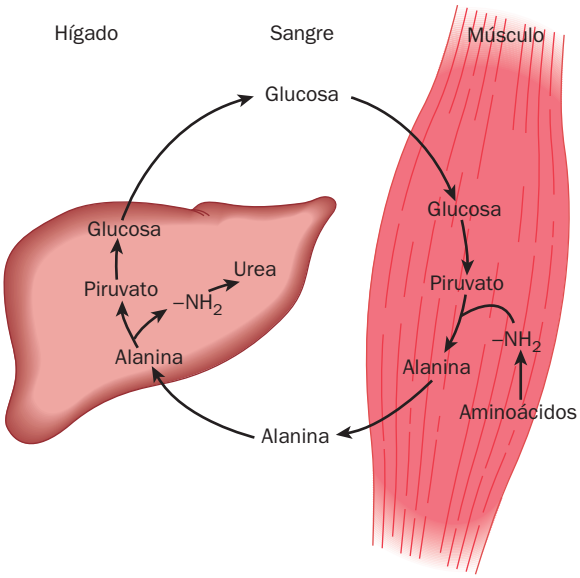


FIGURA 28-6 **El ciclo glucosa-alanina.** La alanina se sintetiza en el músculo mediante la transaminación de piruvato derivado de glucosa, liberado en el torrente sanguíneo y absorbido por el hígado. En el hígado, el esqueleto de carbono de la alanina se reconvierte en glucosa y se libera en el torrente sanguíneo, donde está disponible para la absorción muscular y la resíntesis de la alanina.

del músculo a la circulación. La alanina se extrae principalmente por el hígado, y la glutamina se extrae por el intestino y el riñón, y ambos convierten una porción significativa en alanina. La glutamina también sirve como fuente de amoniaco para la excreción renal. El riñón proporciona una fuente importante de serina para la absorción por los tejidos periféricos, incluidos el hígado y el músculo.

Los aminoácidos de cadena ramificada, particularmente la valina, son liberados por el músculo y son absorbidos con predominio por el cerebro.

La alanina es un **aminoácido gluconeogénico** clave (**figura 28-6**). La tasa de gluconeogénesis hepática por alanina es mucho más alta que la de todos los demás aminoácidos. La capacidad del hígado para la gluconeogénesis de la alanina no alcanza la saturación hasta que la concentración de alanina alcanza de 20 a 30 veces su nivel fisiológico normal. Después de una comida rica en proteínas, los tejidos esplácnicos liberan aminoácidos (**figura 28-7**) mientras que los músculos periféricos extraen aminoácidos, en ambos casos con predominio de aminoácidos de cadena ramificada. Los aminoácidos de cadena ramificada cumplen así un papel especial en el metabolismo del nitrógeno. En el estado de ayuno, proporcionan al cerebro una fuente de energía, y después de la pubertad se extraen con predominio por el músculo, habiendo sido retenidos por el hígado.

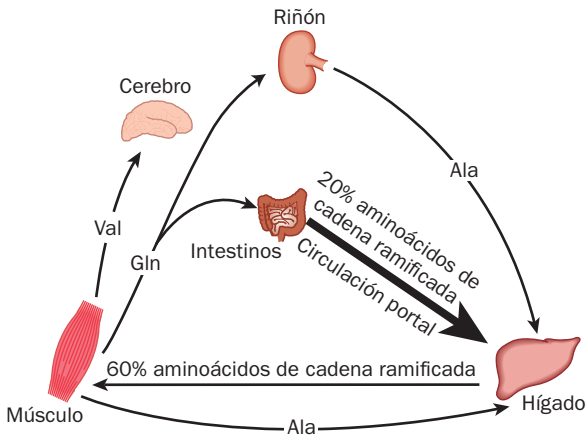


FIGURA 28-7 **Sumario del intercambio de aminoácidos entre órganos inmediatamente después de la alimentación.**

LOS ANIMALES CONVIERTEN EL NITRÓGENO α-AMINO EN PRODUCTOS FINALES VARIADOS

En dependencia de su nicho ecológico y fisiología, diferentes animales excretan el exceso de nitrógeno como amoniaco, ácido úrico o urea. El ambiente acuoso de los peces teleósteos, que son **amonotélicos** (excretan amoniaco), les permite excretar agua continuamente para facilitar la excreción de amoniaco, que es altamente tóxico. Si bien este enfoque es apropiado para un animal acuático, las aves deben conservar el agua y mantener un bajo peso. Las aves, que son **uricotélicas**, resuelven ambos problemas excretando ácido úrico rico en nitrógeno como guano semisólido (véase figura 33-11). Muchos animales terrestres, incluidos los humanos, son **ureotélicos** y excretan urea no tóxica, altamente soluble en agua. Dado que la urea no es tóxica para los humanos, los altos niveles sanguíneos en la enfermedad renal son una consecuencia, no una causa, de la función renal alterada.

BIOSÍNTESIS DE LA UREA

La biosíntesis de la urea se produce en cuatro etapas: 1) transaminación, 2) desaminación oxidativa de glutamato, 3) transporte de amoniaco y 4) reacciones del ciclo de la urea (**figura 28-8**). La expresión en el hígado de los ácidos ribonucleicos (RNAs, *ribonucleic acid*) en todas las enzimas del ciclo de la urea aumenta varias veces en la inanición, probablemente secundaria a una degradación incrementada de la proteína para proporcionar energía.

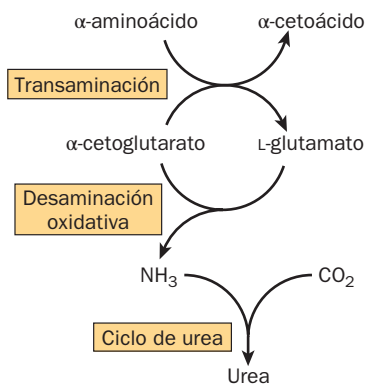


FIGURA 28-8 **Flujo total de nitrógeno en el catabolismo de aminoácidos.**

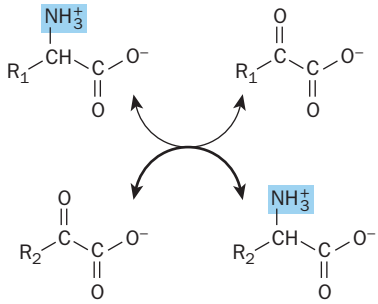


FIGURA 28-9 **Transaminación**. La reacción es libremente reversible con una constante de equilibrio cercana a la unidad.

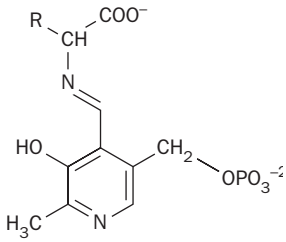


FIGURA 28-11 **Estructura de una base de Schiff formada entre piridoxal fosfato y un aminoácido**.

La transaminación transfiere nitrógeno α-amino a α-cetoglutarato, formando glutamato

Las reacciones de transaminación interconvierten pares de α-aminoácidos y α-cetoácidos (**figura 28-9**). Las reacciones de transaminación, libremente reversibles, también funcionan en la biosíntesis de aminoácidos (véase figura 27-4). Todos los aminoácidos comunes excepto la lisina, la treonina, la prolina y la hidroxiprolina participan en la transaminación. La transaminación no está restringida a los grupos α-amino. El grupo δ-amino de la ornitina (pero no el grupo ε-amino de la lisina) se somete fácilmente a la transaminación.

La alanina-piruvato aminotransferasa (alanina aminotransferasa, EC 2.6.1.2) y la glutamato-α-cetoglutarato aminotransferasa (glutamato aminotransferasa, EC 2.6.1.1) catalizan la transferencia de grupos amino al piruvato (formando alanina) o al α-cetoglutarato (formando glutamato).

Cada aminotransferasa es específica para un par de sustratos, pero no específica para el otro par. Como la alanina también es un sustrato para la glutamato aminotransferasa, el nitrógeno α-amino de todos los aminoácidos que se someten a la transaminación se puede concentrar en el glutamato. Esto es importante porque el L-glutamato es el único aminoácido que se somete a desaminación oxidativa a un ritmo apreciable en los tejidos de los mamíferos. La formación de amoniaco a partir de los grupos α-amino se produce en lo principal a través del nitrógeno α-amino del L-glutamato.

La transaminación se produce a través de un mecanismo de "ping-pong", caracterizado por la adición alternativa de un sustrato y la liberación de un producto (**figura 28-10**). Tras la eliminación de su nitrógeno α-amino por transaminación, el "esqueleto" de carbono remanente de un aminoácido se degrada por las vías discutidas en el capítulo 29.

El piridoxal fosfato (PLP, *pyridoxal phosphate*), un derivado de la vitamina B_6, está presente en el sitio catalítico de todas las aminotransferasas, y desempeña un papel clave en la catálisis. Durante la transaminación el PLP sirve como un "portador" de grupos amino. Se forma una base de Schiff unida a enzima entre el grupo oxo de PLP unido enzimáticamente, y el grupo α-amino de un α-aminoácido (**figura 28-11**). La base de Schiff se puede reorganizar de varias maneras. En la transaminación, la reordenación forma un α-cetoácido, y un fosfato de piridoxamina unido a la enzima. Como se señaló anteriormente, ciertas enfermedades se asocian con niveles séricos elevados de aminotransferasas (véase cuadro 7-1).

LA L-GLUTAMATO DESHIDROGENASA OCUPA UNA POSICIÓN CENTRAL EN EL METABOLISMO DEL NITRÓGENO

La transferencia de nitrógeno amino a α-cetoglutarato forma L-glutamato. La **L-glutamato deshidrogenasa** (GDH, *L-glutamate dehydrogenase*) hepática, que puede usar NAD^+ o $NADP^+$, libera este nitrógeno en forma de amoniaco (**figura 28-12**). La conversión del nitrógeno α-amino en amoniaco por la acción concertada de la glutamato aminotransferasa y la GDH a menudo se denomina "transdesaminación". La actividad de la GDH hepática se inhibe alostéricamente por trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*), guanosín trifosfato (GTP, *guanosine triphosphate*) y dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH, *nicotinamide adenine dinucleotide*) y se activa mediante adenosín difosfato (ADP, *adenosine diphosphate*). La reacción de GDH es libremente reversible, y también funciona en la biosíntesis de aminoácidos (véase figura 27-1).

LAS OXIDASAS DE AMINOÁCIDOS RETIRAN EL NITRÓGENO COMO AMONIACO

La L-aminoácido oxidasa del hígado y el riñón convierte un aminoácido en un α-iminoácido que se descompone en un α-cetoácido con liberación de iones de amonio (**figura 28-13**). La flavina reducida se reoxida por el oxígeno molecular, formando peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que luego se divide en O_2 y H_2O por la **catalasa**, EC 1.11.1.6.

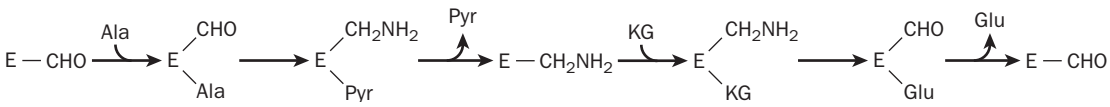


FIGURA 28-10 **Mecanismo de "ping-pong" para la transaminación.** E-CHO y E-CH_2NH_2 representan piridoxal fosfato unido a la enzima y piridoxamina fosfato, respectivamente. [Ala, (*alanine*): alanina; Glu, (*glutamate*): glutamato; KG, (α-*ketoglutarate*): α-cetoglutarato; Pyr, (*pyruvate*): piruvato].

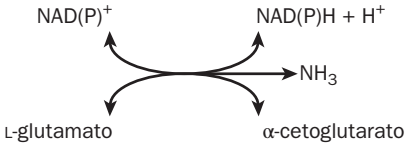


FIGURA 28-12 La reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa, EC 1.4.1.2. NAD (P)$^+$ significa que NAD$^+$ o NADP$^+$ pueden servir como el óxido-reductor. La reacción es reversible, pero favorece fuertemente la formación de glutamato.

La intoxicación por amoniaco es de peligro para la vida

El amoniaco producido por bacterias entéricas, absorbido por la sangre venosa portal, así como el amoniaco producido por los tejidos, se eliminan rápidamente de la circulación por el hígado y se convierten en urea. Por tanto, es normal que sólo trazas (10-20 µg/dL) estén presentes en la sangre periférica. Esto es esencial, ya que el amoniaco es tóxico para el sistema nervioso central. Si la sangre portal eludiera al hígado, el amoniaco sistémico en la sangre podría alcanzar niveles tóxicos. Esto ocurre cuando la función hepática está afectada severamente, o en el desarrollo de enlaces colaterales entre las venas portales sistémicas en la cirrosis. Los síntomas de la **intoxicación por amoniaco** incluyen temblores, dificultad para hablar, visión borrosa, coma y, en última instancia, la muerte. El amoniaco puede ser tóxico para el cerebro en parte porque reacciona con el α-cetoglutarato para formar glutamato. La pérdida resultante del α-cetoglutarato daña luego la función del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA, *tricarboxylic acid*) en las neuronas.

La glutamina sintetasa estabiliza al amoniaco como glutamina

La formación de glutamina es catalizada por la **glutamina sintetasa** mitocondrial (**figura 28-14**). Dado que la síntesis de enlaces amida está acoplada a la hidrólisis de ATP a ADP y fosfato inorgánico (P_i, *inorganic phosphate*), la reacción favorece fuertemente la síntesis de

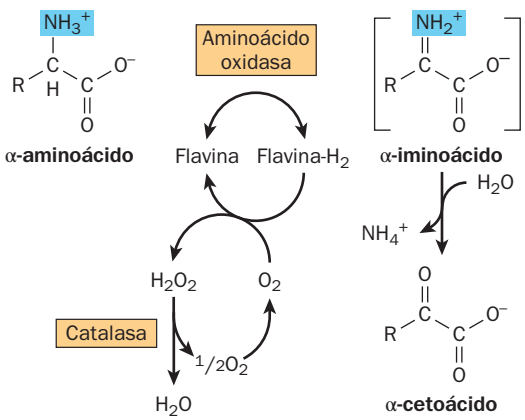


FIGURA 28-13 Desaminación oxidativa catalizada por L-aminoácido oxidasa (L-α-aminoácido: O_2 oxidorreductasa, EC 1.4.3.2). El α-iminoácido, que se muestra entre corchetes, no es un intermediario estable.

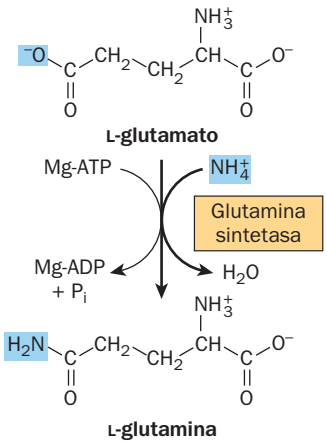


FIGURA 28-14 Formación de glutamina, catalizada por glutamina sintetasa, EC 6.3.1.2.

glutamina. Durante la catálisis, el glutamato ataca al grupo γ-fosforilo del ATP, formando γ-glutamilfosfato y ADP. Después de la desprotonación de NH_4^+, el NH_3 ataca el γ-glutamil fosfato y se liberan glutamina y P_i. Además de proporcionar glutamina para servir como transportador de nitrógeno, carbono y energía entre los órganos (figura 28-5), la glutamina sintetasa desempeña un papel principal, tanto en la desintoxicación del amoniaco como en la homeostasis ácido-base. Una deficiencia rara en la glutamina sintetasa en neonatos da como resultado un daño cerebral severo, falla multiorgánica y la muerte.

Glutaminasa y asparaginasa Desamidato de glutamina y asparagina

Hay dos isoformas humanas de **glutaminasa** mitocondrial, denominadas glutaminasa de tipo hepático y de tipo renal. Producto de genes diferentes, las glutaminasas difieren con respecto a su estructura, cinética y regulación. Los niveles de glutaminasa hepática aumentan en respuesta a la ingesta alta de proteínas, mientras

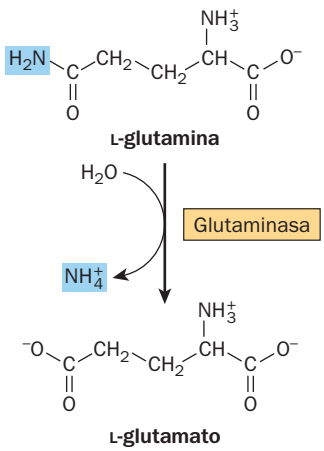


FIGURA 28-15 La reacción catalizada por glutaminasa, EC 3.5.1.2. La reacción transcurre de forma esencialmente irreversible en la dirección de formación de glutamato y NH_4^+. Tenga en cuenta que es removido el nitrógeno *amida*, no el nitrógeno α-amino.

que la glutaminasa renal de tipo riñón aumenta en la acidosis metabólica. La liberación hidrolítica de la amida nitrogenada de la glutamina como amoniaco, catalizada por la glutaminasa (**figura 28-15**), favorece fuertemente la formación de glutamato. Una reacción análoga es catalizada por la L-asparaginasa (EC 3.5.1.1). La acción concertada de la glutamina sintetasa, y la glutaminasa, cataliza de esta manera la interconversión del ion amonio libre y la glutamina.

La formación y secreción de amoniaco mantiene el equilibrio ácido-base

La excreción en la orina de amoniaco producido por las células tubulares renales facilita la conservación del catión y la regulación del equilibrio ácido-base. La producción de amoniaco a partir de aminoácidos renales intracelulares, especialmente la glutamina, aumenta la **acidosis metabólica** y disminuye la **alcalosis metabólica**.

La urea es el principal producto final del catabolismo del nitrógeno en humanos

La síntesis de 1 mol de urea requiere 3 mol de ATP, 1 mol de ion amonio y aspartato, y emplea cinco enzimas (**figura 28-16**). De los seis aminoácidos participantes, el *N*-acetilglutamato funciona únicamente como un activador enzimático. Los otros sirven como portadores de los átomos que finalmente se convierten en urea. El principal papel metabólico de la **ornitina**, la **citrulina** y el **argininosuccinato** en los mamíferos es la síntesis de urea. La síntesis de urea es un proceso cíclico. Mientras se consumen iones de amonio, CO_2, ATP y aspartato, la ornitina consumida en la reacción 2 se regenera en la reacción 5. Por tanto, no hay pérdida o ganancia

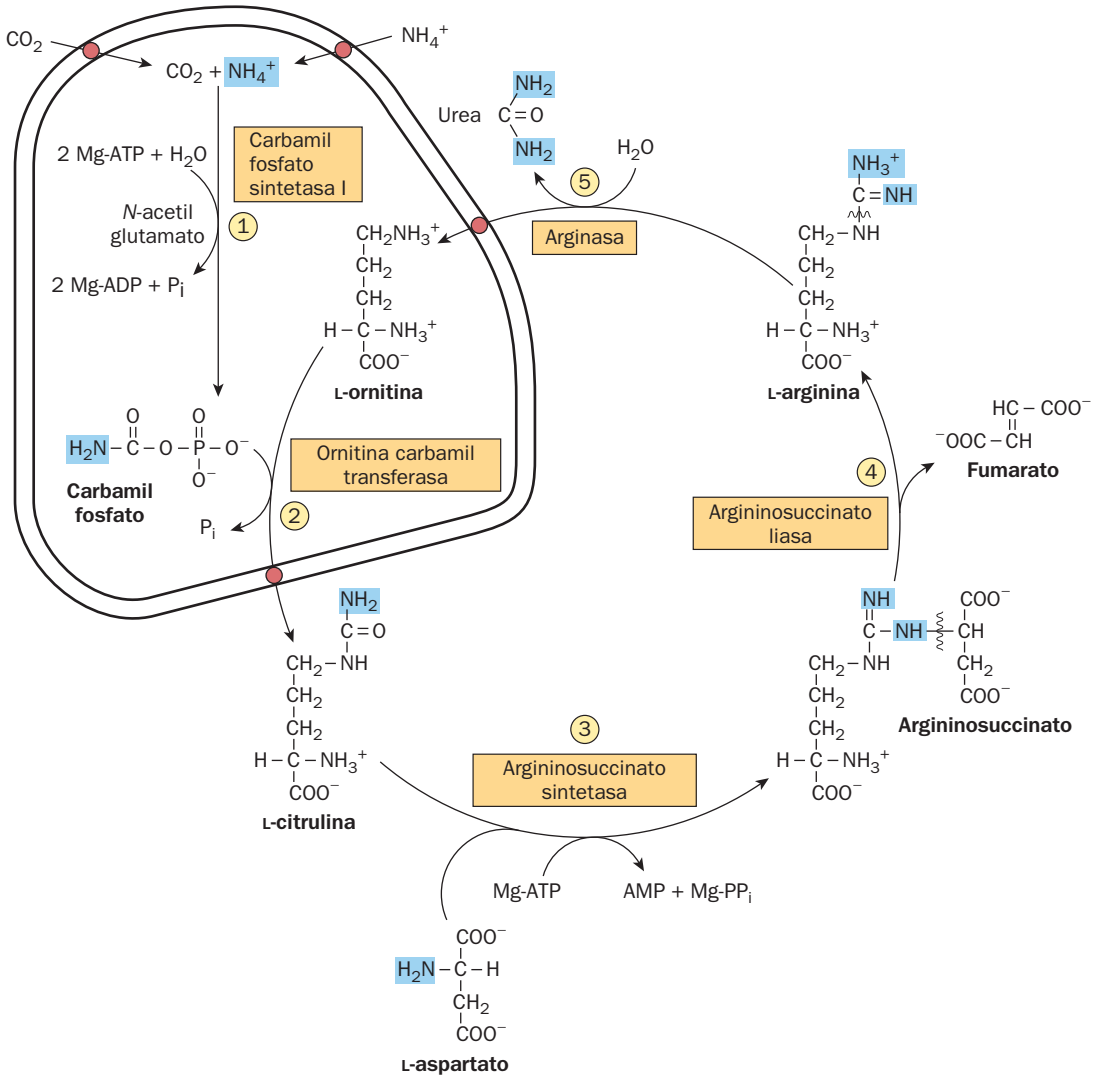


FIGURA 28-16 **Reacciones e intermediarios de la biosíntesis de urea.** Los grupos que contienen nitrógeno que contribuyen a la formación de urea están sombreados. Las reacciones (1) y (2) ocurren en la matriz de las mitocondrias hepáticas y las reacciones (3), (4) y (5) en el citosol hepático. El CO_2 (como bicarbonato), el ion amonio, la ornitina y la citrulina entran a la matriz mitocondrial a través de portadores específicos (véase puntos rojos) presentes en la membrana interna de las mitocondrias del hígado.

neta de ornitina, citrulina, argininosuccinato o arginina. Como se indica en la figura 28-16, se producen algunas reacciones de síntesis de urea en la matriz de la mitocondria y otras reacciones en el citosol.

El carbamil fosfato sintetasa I inicia la biosíntesis de la urea

La condensación de CO_2, amoniaco y ATP para formar **carbamil fosfato** está catalizada por la **carbamil fosfato sintetasa I mitocondrial** (EC 6.3.4.16). Una forma citosólica de esta enzima, la carbamil fosfato sintetasa II, utiliza glutamina en lugar de amoniaco como donante del nitrógeno, y funciona en la biosíntesis de pirimidina (véase figura 33-9). La acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y la carbamil fosfato sintetasa I transporta, por tanto, nitrógeno amínico a carbamil fosfato, un compuesto con alto potencial de transferencia de grupo.

La carbamil fosfato sintetasa I, la enzima limitante de la velocidad del ciclo de la urea, es activa sólo en presencia de ***N*-acetilglutamato**, un activador alostérico que mejora la afinidad de la sintetasa por el ATP. La síntesis de 1 mol de carbamil fosfato requiere 2 mol de ATP. Un ATP sirve como el donador de fosforilo para la formación del enlace de anhídrido de ácido mixto de carbamil fosfato. El segundo ATP proporciona la fuerza motriz para la síntesis del enlace amida del carbamil fosfato. Los otros productos son 2 mol de ADP y 1 mol de P_i (reacción 1, figura 28-16). La reacción procede paso a paso. La reacción de bicarbonato con ATP forma carbonil fosfato y ADP. El amoniaco luego desplaza al ADP, formando carbamato y ortofosfato. La fosforilación de carbamato por el segundo ATP forma después carbamil fosfato.

El carbamil fosfato más ornitina forma citrulina

La **L-ornitina transcarbamilasa** (EC 2.1.3.3) cataliza la transferencia del grupo carbamil de carbamil fosfato a ornitina, formando citrulina y ortofosfato (reacción 2, figura 28-16). Mientras que la reacción ocurre en la matriz mitocondrial, tanto la formación de ornitina como el posterior metabolismo de la citrulina tienen lugar en el citosol. Por tanto, la entrada de la ornitina en las mitocondrias, y el éxodo de la citrulina desde las mitocondrias, involucran permeasas de la membrana interna mitocondrial (figura 28-16).

La citrulina más aspartato forma argininosuccinato

La **argininosuccinato sintetasa** (EC 6.3.4.5) vincula el aspartato y la citrulina a través del grupo amino del aspartato (reacción 3, figura 28-16) y proporciona el segundo nitrógeno de la urea. La reacción requiere ATP e implica la formación intermedia de citrulil-AMP. El desplazamiento posterior de AMP por aspartato forma argininosuccinato.

La división del argininosuccinato forma arginina y fumarato

La división del argininosuccinato está catalizada por la **argininosuccinato liasa** (EC 4.3.2.1). La reacción avanza con la retención de los tres nitrógenos en la arginina y la liberación del esqueleto de aspartato como fumarato (reacción 4, figura 28-16). La adición posterior de agua al fumarato forma L-malato, cuya subsecuente oxidación dependiente de NAD^+ forma oxaloacetato. Estas dos reacciones son análogas a las reacciones del ciclo del ácido cítrico, pero están catalizadas por la **fumarasa *citosólica*** y la **malato deshidrogenasa**. Después la transaminación de oxaloacetato por la glutamato aminotransferasa reforma al aspartato. El esqueleto de carbono del fumarato de aspartato actúa así como un portador del nitrógeno del glutamato hacia un precursor de la urea.

La división de la arginina libera urea y reordena la ornitina

La escisión hidrolítica del grupo guanidino de la arginina, catalizada por la **arginasa** hepática (EC 3.5.3.1), libera urea (reacción 5, figura 28-16). El otro producto, la ornitina, vuelve a entrar en las mitocondrias del hígado y participa en recorridos adicionales de la síntesis de la urea. La ornitina y la lisina son potentes inhibidores de la arginasa, y compiten con la arginina. La arginina también sirve como el precursor del potente relajante muscular óxido nítrico (NO, *nitric oxide*) en una reacción dependiente de Ca^{2+}, catalizada por la NO sintetasa.

La carbamil fosfato sintetasa I es la enzima marcapasos del ciclo de la urea

La actividad de la carbamil fosfato sintetasa I está determinada por el ***N*-acetilglutamato**, cuyo nivel de estado de equilibrio está dictado por el equilibrio entre su velocidad de síntesis a partir del acetil-CoA y glutamato, y su velocidad de hidrólisis hacia el acetato y glutamato, reacciones catalizadas por la *N*-acetilglutamato sintetasa (NAGS, *N-acetylglutamate synthetase*) y la *N*-acetilglutamato desacilasa (hidrolasa), respectivamente.

$$\text{Acetil-CoA} + \text{L-glutamato} \rightarrow \textit{N}\text{-acetil-L-glutamato} + \text{CoASH}$$

$$\textit{N}\text{-acetil-L-glutamato} + H_2O \rightarrow \text{L-glutamato} + \text{acetato}$$

Los cambios importantes en la dieta pueden aumentar las concentraciones de las enzimas individuales del ciclo de la urea de 10 a 20 veces. Por ejemplo, la inanición eleva los niveles de enzimas, supuestamente para hacer frente a la mayor producción de amoniaco que acompaña a la degradación de la proteína inducida por el aumento de la inanición.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS TRASTORNOS METABÓLICOS

Los trastornos metabólicos asociados con las enzimas de la biosíntesis de urea, comparativamente raros, pero bien caracterizados y devastadores desde el punto de vista médico, ilustran los siguientes principios generales de las enfermedades metabólicas hereditarias.

1. Signos y síntomas clínicos similares o idénticos pueden acompañar a diversas mutaciones genéticas en un gen que codifica una enzima determinada, o en enzimas que catalizan reacciones sucesivas en una vía metabólica.

2. La terapia racional se basa en la comprensión de las reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas relevantes, tanto en individuos normales como en afectados.

3. La identificación de compuestos intermedios y de productos subordinados que se acumulan antes de un bloque metabólico proporciona la base para las pruebas de pesquisaje metabólico, que pueden implicar la reacción deteriorada.
4. El diagnóstico definitivo implica un análisis cuantitativo de la actividad de la enzima sospechosa de tener defectos.
5. La secuencia de ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*) del gen que codifica una enzima mutante dada se compara con la del gen "virgen" para identificar la(s) mutación(es) específica(s) que causan la enfermedad.
6. El aumento exponencial en la secuenciación del DNA de genes humanos ha identificado docenas de mutaciones de un gen afectado que son benignas, o están asociadas con síntomas de severidad variable de un trastorno metabólico determinado.

LOS TRASTORNOS METABÓLICOS ESTÁN ASOCIADOS A CADA REACCIÓN DEL CICLO DE LA UREA

Cinco enfermedades bien documentadas representan defectos en la biosíntesis de las enzimas del ciclo de la urea. El análisis de la genética molecular ha identificado los lugares geométricos de las mutaciones asociadas con cada deficiencia, cada una de las cuales muestra una considerable variabilidad genética y fenotípica (**cuadro 28-1**).

Los trastornos del ciclo de la urea se caracterizan por hiperamonemia, encefalopatía y alcalosis respiratoria. Cuatro de las cinco enfermedades metabólicas, las deficiencias de carbamil fosfato sintetasa I, ornitina carbamil transferasa, argininosuccinato sintetasa y argininosuccinato liasa, dan como resultado la acumulación de precursores de urea, principalmente amoniaco y glutamina. La intoxicación por amoniaco es más severa cuando el bloqueo metabólico ocurre en las reacciones 1 o 2 (figura 28-16), ya que si la citrulina se puede sintetizar, es que ya se ha eliminado algún amoniaco al unirse en forma covalente a un metabolito orgánico.

Los síntomas clínicos comunes a todos los trastornos del ciclo de la urea incluyen vómitos, rehusar alimentos ricos en proteínas, ataxia intermitente, irritabilidad, letargo y retraso mental severo. La presentación clínica más dramática se produce en los recién nacidos a término que inicialmente parecen normales, y luego muestran letargo progresivo, hipotermia y apnea debido a los niveles elevados de amoniaco en el plasma. Las características clínicas y el tratamiento de los cinco trastornos son similares. Una dieta baja en proteínas, ingerida en pequeñas cantidades de alimentos y con una frecuencia mayor, evita aumentos repentinos en los niveles de amoniaco en sangre, lo que traería una mejoría significativa y minimización del daño cerebral. El objetivo de la terapia dietética es proporcionar la cantidad adecuada de proteína, arginina y energía para promover el crecimiento y el desarrollo, al tiempo que se minimizan las perturbaciones metabólicas.

Carbamil fosfato sintetasa I

El *N*-acetilglutamato es esencial para la actividad de carbamil fosfato sintetasa I, EC 6.3.4.16 (reacción 1, figura 28-16). Los defectos en la carbamil fosfato sintetasa I son responsables de la relativamente rara enfermedad metabólica denominada "hiperamonemia tipo 1" (frecuencia estimada 1:62 000).

N-acetilglutamato sintetasa

La *N*-acetilglutamato sintetasa, EC 2.3.1.1 (NAGS, *N-acetylglutamate synthetase*), cataliza la formación de acetil-CoA y glutamato del *N*-acetilglutamato, esencial para la actividad del carbamil fosfato sintetasa I.

$$\text{L-glutamato} + \text{acetil-CoA} \rightarrow \textit{N}\text{-acetil-L-glutamato} + \text{CoASH}$$

Mientras que las características clínicas y bioquímicas de la deficiencia de NAGS son indistinguibles de las que surgen de un defecto en la carbamil fosfato sintetasa I, una deficiencia de NAGS puede responder a la administración de *N*-acetilglutamato.

Ornitina permeasa

El síndrome de hiperornitinemia, hiperamonemia y homocitrulinuria (**HHH, *hyperornithinemia-hyperammonemia- homocitrullinuria*)** es el resultado de la mutación del gen *ORNT1* que codifica la membrana mitocondrial ornitina permeasa. El fracaso para importar ornitina citosólica dentro de la matriz mitocondrial hace que el ciclo de la urea sea inoperable, con la consecuente hiperamonemia e hiperornitinemia debido a la acumulación acompañante de ornitina citosólica. En ausencia de su aceptor normal (ornitina), el carbamil fosfato mitocondrial carbamila la lisina a la homocitrulina, lo que produce homocitrulinuria.

Ornitina transcarbamilasa

La deficiencia relacionada al cromosoma X denominada "hiperamonemia tipo 2" refleja un defecto en la ornitina transcarbamilasa (reacción 2, figura 28-16). Las madres también muestran hipera-

CUADRO 28-1 Enzimas de trastornos metabólicos heredados del ciclo de la urea

Enzima	Número en catálogo de enzimas	Referencia OMIM[a]	Cifra y reacción
Carbamil-fosfato sintetasa 1	6.3.4.16	237300	28-13①
Ornitina carbamil transferasa	2.1.3.3	311250	28-13②
Argininosuccinato sintetasa	6.3.4.5	215700	28-13③
Argininosuccinato liasa	4.3.2.1	608310	28-13④
Arginasa	3.5.3.1	608313	28-13⑤

[a] Base de datos de herencia mendeliana masculina en línea: ncbi.nlm.nih.gov/omim/

monemia y una aversión a los alimentos ricos en proteínas. Los niveles de glutamina son elevados en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, probablemente como resultado de la síntesis mejorada de glutamina en respuesta a los niveles elevados de tejido amoniacal.

Argininosuccinato sintetasa

Además de los pacientes que carecen de actividad detectable de argininosuccinato sintetasa (reacción 3, figura 28-16), se ha reportado una K_m incrementada 25 veces para la citrulina. En la citrulinemia resultante, los niveles plasmáticos y de citrulina en el líquido cefalorraquídeo están elevados, y de 1 a 2 g de citrulina se excretan diariamente.

Argininosuccinato liasa

La aciduria argininosuccínica, acompañada de niveles elevados de argininosuccinato en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, está asociada con el cabello greñudo y friable (tricorrhexis nodosa). Se conocen ambos tipos; de inicio precoz y tardío. El defecto metabólico está en la argininosuccinato liasa (reacción 4, figura 28-16). El diagnóstico mediante la medición de la actividad de los eritrocitos de la argininosuccinato liasa se puede realizar en la sangre del cordón umbilical, o en las células del líquido amniótico.

Arginasa

La hiperargininemia es un defecto autosómico recesivo en el gen de la arginasa (reacción 5, figura 28-16). A diferencia de otros trastornos del ciclo de la urea, los primeros síntomas de la hiperargininemia por lo general no aparecen hasta los 2 o 4 años de edad. La sangre y los niveles de arginina en el líquido cefalorraquídeo están elevados. El patrón urinario de aminoácidos, que se parece al de la lisina-cistinuria (véase capítulo 29), puede reflejar la competencia de la arginina con la lisina y la cisteína para la reabsorción en el túbulo renal.

El análisis de la sangre de neonatos mediante espectrometría de masas en tándem puede detectar enfermedades metabólicas

Las enfermedades metabólicas causadas por la ausencia o deterioro funcional de las enzimas metabólicas pueden ser devastadoras. Sin embargo, la intervención dietética temprana puede en muchos casos mejorar los efectos calamitosos, que de otro modo serían inevitables. La detección temprana de tales enfermedades metabólicas es, por tanto, de primordial importancia. Desde el inicio en Estados Unidos de los programas de detección de recién nacidos en la década de 1960, todos los estados ahora realizan exámenes metabólicos de recién nacidos. La poderosa y sensible técnica de la **espectrometría de masas en tándem** (MS, *mass spectrometry*) (véase capítulo 4) puede detectar en pocos minutos más de 40 analitos de importancia en la detección de trastornos metabólicos. La mayoría de los estados emplean MS en tándem para pesquisar neonatos y detectar trastornos metabólicos como acidemias orgánicas, aminoacidemias, trastornos de la oxidación de ácidos grasos y defectos en las enzimas del ciclo de la urea. Un artículo en *Clinical Chemistry* 2006;39:315 revisa la teoría de la MS en tándem, su aplicación a la detección de trastornos metabólicos y las situaciones que pueden producir falsos positivos, e incluye una larga tabla de analitos detectables y las enfermedades metabólicas relevantes.

Pueden los trastornos metabólicos ser rectificados por modificación genética o de proteínas

A pesar de los resultados en modelos animales que usan un vector adenovírico para tratar la citrulinemia, en la actualidad la terapia génica no proporciona una solución efectiva para humanos. No obstante, la modificación directa de una enzima defectuosa basada en CRISPR/Cas9 puede restaurar la actividad enzimática funcional de células madre pluripotentes humanas cultivadas.

RESUMEN

- Los seres humanos degradan de 1 a 2% de su proteína corporal al día, a velocidades que varían ampliamente entre las proteínas y con el estado fisiológico. Las enzimas reguladoras clave a menudo tienen vidas medias cortas.
- Las proteínas se degradan tanto por rutas dependientes como independientes de ATP. La ubiquitina identifica a muchas proteínas intracelulares para su degradación. Los receptores de superficie de la célula hepática se unen e internalizan las asialoglucoproteínas circulantes destinadas a la degradación lisosómica.
- Las proteínas poliubiquitinadas se degradan por proteasas en la superficie interna de una macromolécula cilíndrica, el proteosoma. La entrada en el proteosoma está bloqueada por un poro proteico en forma de rosca, que rechaza la entrada a todas las proteínas excepto a las poliubiquitinadas.
- Los peces excretan directamente NH_3 muy tóxico. Las aves convierten NH_3 en ácido úrico. Los vertebrados superiores convierten NH_3 en urea.
- La transaminación canaliza el nitrógeno de los aminoácidos en el glutamato. La GDH ocupa una posición central en el metabolismo del nitrógeno.
- La glutamina sintetasa convierte el NH_3 en glutamina no tóxica. La glutaminasa libera NH_3 para usarse en la síntesis de urea.
- El NH_3, el CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato proporcionan los átomos de urea.
- La síntesis de urea hepática tiene lugar en parte en la matriz mitocondrial, y en parte en el citosol.
- Los cambios en los niveles de enzimas, y la regulación alostérica del carbamil fosfato sintetasa I por *N*-acetilglutamato regulan la biosíntesis de urea.
- Las enfermedades metabólicas se asocian con defectos en cada enzima del ciclo de la urea, de la ornitina permeasa asociada a la membrana, y de la NAGS.
- Los trastornos metabólicos de la biosíntesis de urea ilustran seis principios generales para todos los trastornos metabólicos.
- La espectrometría de masas en tándem es la técnica de elección en el pesquisaje de neonatos para enfermedades metabólicas hereditarias.

REFERENCIAS

Adam S, Almeida MF, Assoun M, *et al*. Dietary management of urea cycle disorders: European practice. *Mol Genet Metab* 2013;110:439.

Burgard P, Kölker S, Haege G, *et al*. Neonatal mortality and outcome at the end of the first year of life in early onset urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 2016;39:219.

Dwane L, Gallagher WM, Ni Chonghaile T, *et al*. The emerging role of non-traditional ubiquitination in oncogenic pathways. *J Biol Chem* 2017;292:3543.

Häberle J, Pauli S, Schmidt E, *et al*. Mild citrullinemia in caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). *Mol Genet Metab* 2003;80:302.

Jiang YH, Beaudet AL. Human disorders of ubiquitination and proteasomal degradation. *Curr Opin Pediatr* 2004;16:419.

Monné M, Miniero DV, Dabbabbo L, *et al*. Mitochondrial transporters for ornithine and related amino acids: a review. *Amino Acids* 2015;9:1963.

Pal A, Young MA, Donato NJ. Emerging potential of therapeutic targeting of ubiquitin-specific proteases in the treatment of cancer. *Cancer Res* 2014;14:721.

Pickart CM: Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem* 2001;70:503.

Sylvestersen KB, Young C, Nielsen ML. Advances in characterizing ubiquitylation sites by mass spectrometry. *Curr Opin Chem Biol* 2013;17:49.

Waisbren SE, Gropman AL. Improving long term outcomes in urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 2016;39:573.

CAPÍTULO

29

Catabolismo de los esqueletos de carbono de los aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Nombrar los principales catabolitos de los esqueletos de carbono de los aminoácidos de la proteína, y los principales destinos metabólicos de estos catabolitos.
- Escribir una ecuación para una reacción de aminotransferasa (transaminasa) e ilustrar el papel desempeñado por la coenzima.
- Describir las rutas metabólicas de cada uno de los aminoácidos proteicos, e identificar las reacciones asociadas con trastornos metabólicos clínicamente significativos.
- Proporcionar ejemplos de aminoacidurias que surgen de defectos en la reabsorción tubular glomerular, y las consecuencias de una absorción intestinal alterada de triptófano.
- Explicar por qué los defectos metabólicos en diferentes enzimas del catabolismo de un aminoácido específico se pueden asociar con signos y síntomas clínicos similares.
- Describir las implicaciones de un defecto metabólico en la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa para el catabolismo de la prolina y de la 4-hidroxiprolina.
- Explicar cómo los nitrógenos α-amino de la prolina y la lisina se eliminan mediante procesos diferentes a la transaminación.
- Representar analogías entre las reacciones que participan en el catabolismo de los ácidos grasos y el de los aminoácidos de cadena ramificada.
- Identificar los defectos metabólicos específicos en la hipervalinemia, la enfermedad urinaria del jarabe de arce, la cetonuria intermitente de cadena ramificada, la acidemia isovalérica y la aciduria metilmalónica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En el capítulo 28 se describió la eliminación por transaminación y el destino metabólico de los átomos de nitrógeno de la mayoría de L-α-aminoácidos. Este aborda los destinos metabólicos de los esqueletos de hidrocarburos resultantes de cada uno de los aminoácidos proteicos, las enzimas e intermediarios implicados, y varias enfermedades metabólicas asociadas o "errores congénitos del metabolismo". La mayoría de los trastornos del catabolismo de aminoácidos son raros, pero si se dejan sin tratamiento pueden causar daño cerebral irreversible y mortalidad temprana. Son esenciales la detección prenatal o postnatal temprana de los trastornos metabólicos y el inicio oportuno del tratamiento. La capacidad de detectar las actividades de las enzimas en los cultivos de células de líquido amniótico facilita el diagnóstico prenatal mediante la amniocentesis. En Estados Unidos todos los estados realizan en recién nacidos pruebas de detección para hasta 40 enfermedades metabólicas, incluidos los trastornos asociados con defectos en el catabolismo de aminoácidos. Las pruebas más confiables usan espectrometría de masas en tándem para detectar, en unas pocas gotas de sangre de los recién nacidos, catabolitos que implican la ausencia o disminución de la actividad de una o más enzimas específicas y que, por tanto, apuntan a un defecto metabólico dado.

Las mutaciones de un gen, o de regiones reguladoras de DNA asociadas, pueden dar como resultado la incapacidad de sintetizar la enzima codificada, o una síntesis de la enzima parcialmente funcional o no totalmente funcional. Pueden tener graves consecuencias metabólicas las mutaciones que afectan la actividad de la enzi-

ma, aquellas que comprometen su estructura tridimensional o que interrumpen sus sitios catalíticos o reguladores. La baja eficacia catalítica de una enzima mutante puede ser resultado del deterioro o bien de la posición de los residuos implicados en la catálisis, o bien del deterioro en la unión de un sustrato, de una coenzima o de un ion metálico. Las mutaciones también pueden perjudicar la capacidad de ciertas enzimas para responder de forma adecuada a las señales que modulan su actividad, al alterar la afinidad de la enzima por un regulador alostérico de la actividad. Dado que diferentes mutaciones pueden tener efectos similares sobre cualquiera de los factores anteriores, diversas mutaciones pueden dar lugar a los mismos signos y síntomas clínicos. Sin embargo, a nivel molecular, estas son enfermedades moleculares diferentes. El tratamiento actual de los trastornos en el metabolismo de los aminoácidos consiste, principalmente, en proporcionar dietas bajas en el aminoácido cuyo catabolismo está alterado. Sin embargo, en última instancia, la ingeniería genética podría ser capaz de corregir de forma permanente un defecto metabólico determinado.

LOS AMINOÁCIDOS SON CATABOLIZADOS HASTA INTERMEDIARIOS PARA LA BIOSÍNTESIS DE CARBOHIDRATOS Y LÍPIDOS

Los estudios nutricionales del periodo de 1920 a 1940, reforzados por otros estudios realizados entre 1940 y 1950 que utilizaron aminoácidos marcados por isótopos, establecieron la interconversión de los átomos de carbono de las grasas, los carbohidratos y las proteínas. Estos estudios también revelaron que una parte o la totalidad del esqueleto de carbono de cada aminoácido es convertible a carbohidratos, a grasas, o a ambos: grasas y carbohidratos (**cuadro 29-1**). La **figura 29-1** describe los aspectos generales de estas interconversiones.

CUADRO 29-1 Destino de los esqueletos de carbono de los L-α-aminoácidos proteicos

Convertidos a intermediarios anfibólicos que forman:			
Carbohidratos (glucogénico)		Grasa (cetogénico)	Glucógenos y grasa (glucogénico y cetogénico)
Ala	Hip	Leu	Ile
Arg	Met	Lis	Fe
Asp	Pro		Trp
Cis	Ser		Tir
Glu	Thr		
Gli	Val		
His			

EL CATABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS INICIA CON LA TRANSAMINACIÓN

La eliminación de nitrógeno α-amino por transaminación, catalizada por una transaminasa (véase figura 28-9) es la primera reacción catabólica de la mayoría de los aminoácidos proteicos. Las excepciones son la prolina, la hidroxiprolina, la treonina y la lisina, cuyos grupos α-amino no participan en la transaminación. Los esqueletos de los hidrocarburos restantes se degradan a intermedios anfibólicos, como se indica en la figura 29-1.

La asparagina y el aspartato forman oxaloacetato

Los cuatro carbonos de la asparagina y del aspartato forman **oxalacetato** mediante reacciones catalizadas por **asparaginasa** (EC 3.5.1.1) y una **transaminasa**.

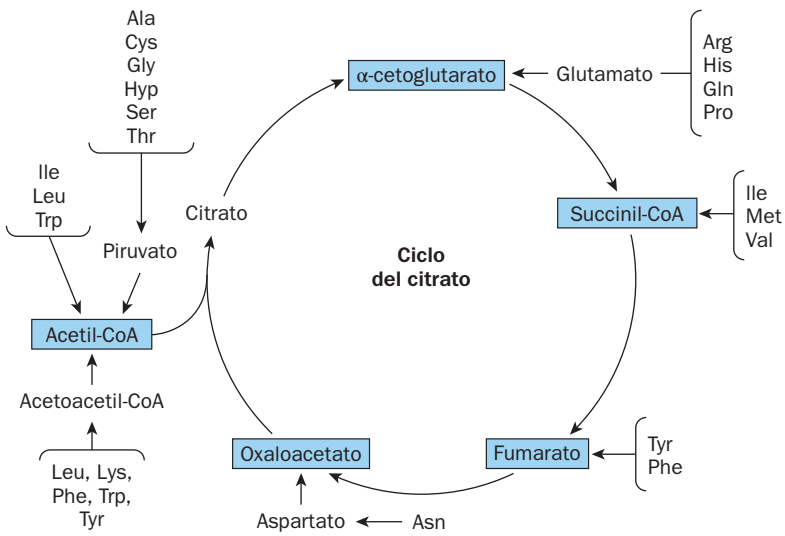


FIGURA 29-1 Visión de conjunto de los intermediarios anfibólicos que resultan del catabolismo de los aminoácidos proteicos.

$$\text{Asparagina} + H_2O \rightarrow \text{Aspartato} + NH_4^+$$
$$\text{Aspartato} + \text{piruvato} \rightarrow \text{alanina} + \text{oxaloacetato}$$

La glutamina y el glutamato forman α-cetoglutarato

Las reacciones sucesivas catalizadas por **glutaminasa** (EC 3.5.1.2) y una **transaminasa** forman α-cetoglutarato

$$\text{Glutamina} + H_2O \rightarrow \text{glutamato} + NH_4^+$$
$$\text{Glutamato} + \text{piruvato} \rightarrow \text{alanina} + \text{α-cetoglutarato}$$

Si bien tanto el glutamato como el aspartato son sustratos para la misma transaminasa, los defectos metabólicos en las transaminasas que cumplen funciones anfibólicas centrales pueden ser incompatibles con la vida. En consecuencia, ningún defecto metabólico conocido está asociado con estas dos vías catabólicas cortas que convierten la asparagina y la glutamina en intermedios anfibólicos.

Prolina

El catabolismo de la prolina tiene lugar en las mitocondrias. Como la prolina no participa en la transaminación, su nitrógeno α-amino se retiene a lo largo de una oxidación de dos etapas a glutamato. La oxidación a Δ^1-pirrolina-5-carboxilato está catalizada por la prolina deshidrogenasa, EC 1.5.5.2. La oxidación subsecuente al glutamato es catalizada por la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa (también llamada glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa, EC 1.2.1.88) (**figura 29-2**). Hay dos trastornos metabólicos del catabolismo de la prolina. Heredados como rasgos autosómicos recesivos, ambos son consistentes con una vida adulta normal. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo I** está en la **prolina deshidrogenasa**. Sin embargo, no hay asociado un deterioro del catabolismo de la hidroxiprolina. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo II** está en la Δ^1-pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa, que también participa en el catabolismo de la arginina, la ornitina y la hidroxiprolina (véase a continuación). Dado que el catabolismo de la prolina y la hidroxiprolina se ven afectados, se excretan tanto el Δ^1-pirrolina-5-carboxilato como el Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato (véase figura 29-11).

Arginina y ornitina

Las reacciones iniciales en el catabolismo de la arginina son la conversión a ornitina, seguida de la transaminación de ornitina a glutamato-γ-semialdehído (**figura 29-3**). El catabolismo posterior de glutamato-γ-semialdehído a **α-cetoglutarato** ocurre como se describe para la prolina (figura 29-2). Las mutaciones en la **ornitina δ-aminotransferasa** (ornitina transaminasa, EC 2.6.1.13) elevan la ornitina plasmática y urinaria, y se asocian con la **atrofia girada de la coroides y la retina**. El tratamiento implica restringir la arginina en la dieta. En el **síndrome de hiperornitinemia-hiperamonemia**, un defecto **antiportador de ornitina-citrulina** mitocondrial afecta el transporte de ornitina a las mitocondrias, donde participa en la síntesis de la urea (véase figura 28-16).

Histidina

La histidina se cataboliza vía urocanato, 4-imidazolona-5-propionato y *N*-formiminoglutamato (figlu). La transferencia del grupo formimino al tetrahidrofolato forma glutamato y luego, **α-cetoglutarato** (figura 29-4). En la deficiencia de ácido fólico, la transferencia del grupo formimino se altera y se excreta figlu. La excreción de figlu después de una dosis de histidina puede usarse para detectar la deficiencia de ácido fólico. Los trastornos benignos del catabolismo de la histidina incluyen **histidinemia** y **aciduria urocánica** asociada con alteración de la **histidasa**.

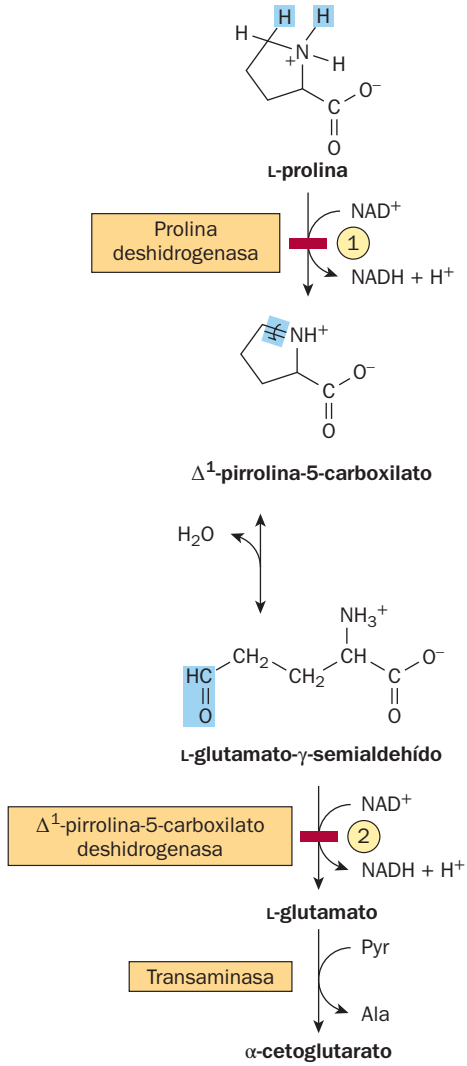


FIGURA 29-2 Catabolismo de la prolina. Las barras rojas y los números encerrados en círculos indican el lugar geométrico de los defectos metabólicos heredados en (1) hiperprolinemia tipo I y (2) hiperprolinemia tipo II. En esta y otras figuras, la zona resaltada en azul enfatizan las porciones de las moléculas que están experimentando cambios químicos.

CATABOLISMOS DE LA GLICINA, LA SERINA, LA ALANINA, LA CISTEÍNA, LA TREONINA Y LA 4-HIDROXIPROLINA

Glicina

El **complejo de división** de la glicina en la mitocondria hepática implica su escisión en CO_2 y NH_4^+ y la formación de *N*5,*N*10–metileno tetrahidrofolato.

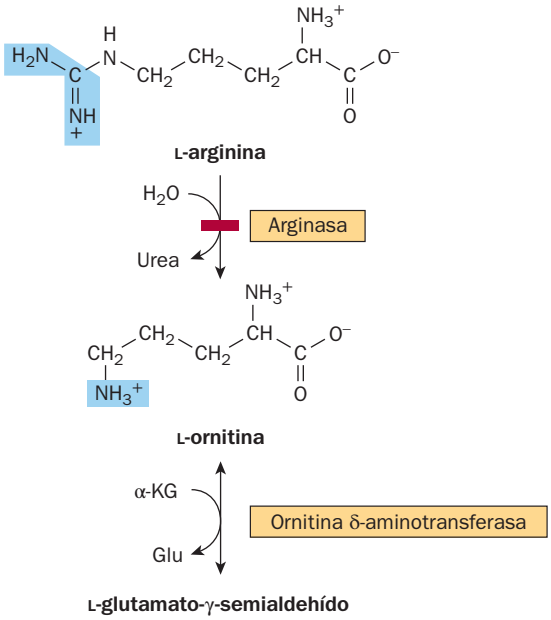


FIGURA 29-3 **Catabolismo de la arginina**. La división catalizada por arginasa de la L-arginina forma urea y L-ornitina. Esta reacción (véase la barra roja) representa el sitio del defecto metabólico hereditario en la hiperargininemia. La transaminación posterior de ornitina a glutamato-γ-semialdehído va seguida de su oxidación a α-cetoglutarato.

$$\text{Glicina} + \text{H}_4\text{folato} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3 + 5,10\text{-CH}_2\text{-H}_4\text{folato} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

El sistema de división de la glicina (figura 29-5) está compuesto por tres enzimas y una "proteína H" que tiene un grupo dihidrolipoilo unido por un enlace covalente. La figura 29-5 también ilustra las reacciones individuales y los intermediarios en la división de la glicina. En la **hiperglicinemia no cetósica** –un raro error innato de la degradación de la glicina– la glicina se acumula en todos los tejidos del organismo, incluido el sistema nervioso central. El defecto en la **hiperoxaluria primaria** es la incapacidad de catabolizar el glioxilato formado por la desaminación de la glicina. La posterior oxidación de glioxilato a oxalato produce urolitiasis, nefrocalcinosis y mortalidad temprana por insuficiencia renal o hipertensión. La **glicinuria** es el resultado de un defecto en la reabsorción tubular renal.

Serina

Tras la conversión a glicina, catalizada por la glicina hidroximetiltransferasa (EC 2.1.2.1), el catabolismo de la serina se combina con el de la glicina (**figura 29-6**).

Alanina

La transaminación de α-alanina forma piruvato. Probablemente, debido a su papel central en el metabolismo, no se conoce un defecto metabólico del catabolismo de la α-alanina.

Cistina y cisteína

La cistina primero es reducida a cisteína por la cistina reductasa, EC 1.8.1.6 (**figura 29-7**). Dos vías diferentes convierten la cisteína

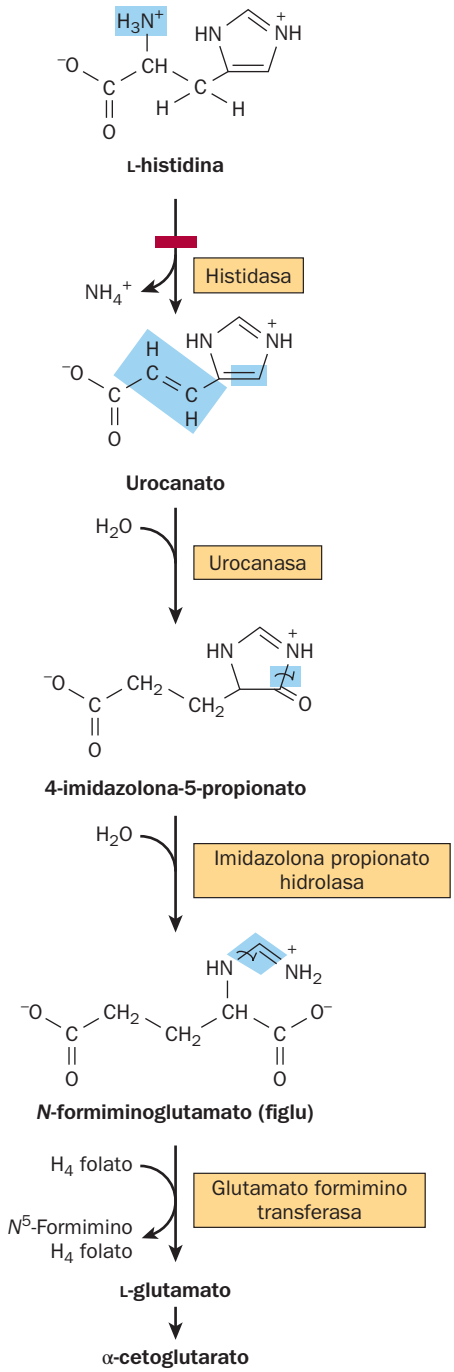


FIGURA 29-4 **Catabolismo de L-histidina a α-cetoglutarato**. (H_4 folato, tetrahidrofolato.) La barra roja indica el sitio de un defecto metabólico hereditario.

en piruvato (**figura 29-8**). Existen numerosas anomalías en el metabolismo de la cisteína. La cistina, la lisina, la arginina y la ornitina se excretan en la **cistina-lisonuria (cistinuria)**, un defecto en la reabsorción renal de estos aminoácidos. Aparte de los cálculos de cistina, la cistinuria es benigna. El disulfuro mixto de L-cisteína y L-homocisteína (**figura 29-9**) excretado por pacientes cistinúricos es más soluble que la cistina y reduce la formación de cálculos de cistina.

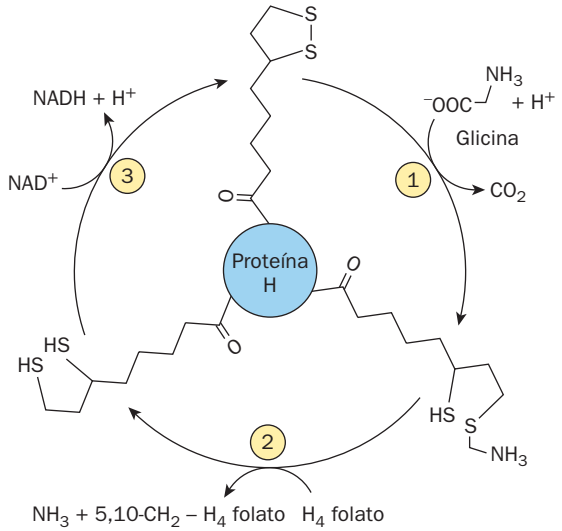


FIGURA 29-5 **El sistema de división de la glicina de las mitocondrias hepáticas.** El complejo de escisión de la glicina consta de tres enzimas y una "proteína H" que tiene un dihidrolipoato unido en forma covalente. Los catalizadores para las reacciones numeradas son (1) glicina deshidrogenasa (descarboxilación), (2) una aminometiltransferasa formadora de amoniaco y (3) dihidrolipoamida deshidrogenasa. (H_4 folato, tetrahidrofolato).

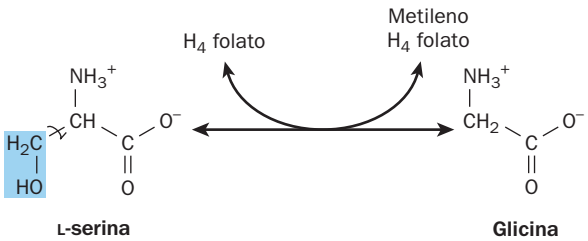


FIGURA 29-6 **Interconversión de serina y glicina por la glicina hidroximetiltransferasa.** (H_4 folato, tetrahidrofolato.)

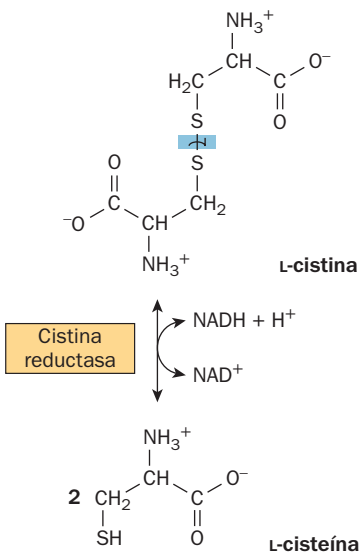


FIGURA 29-7 **Reducción de cistina a cisteína por la cistina reductasa.**

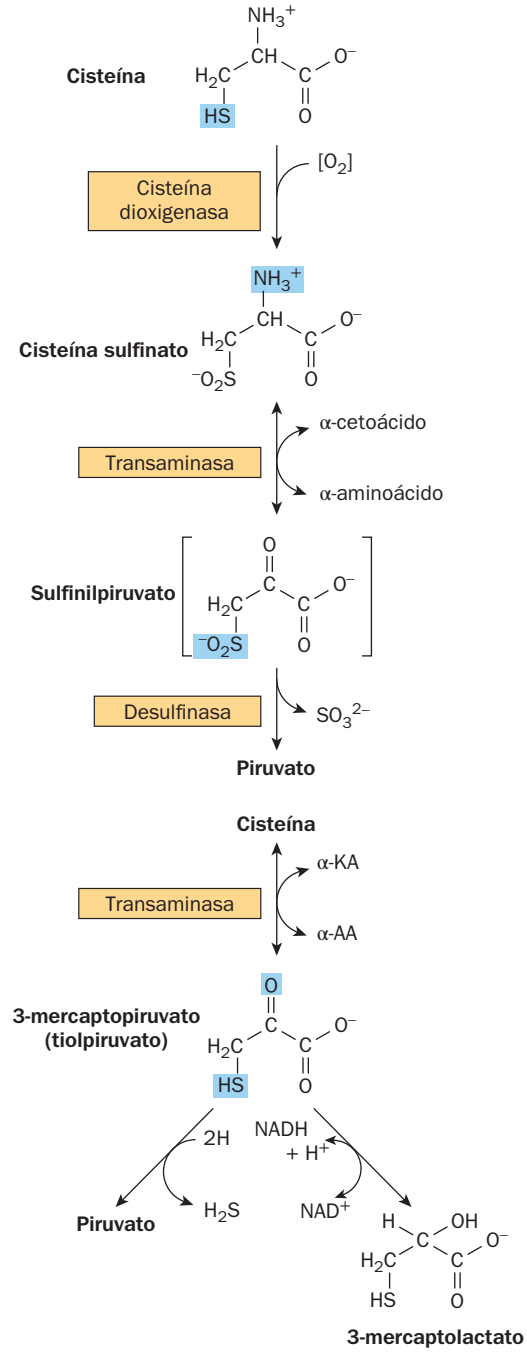


FIGURA 29-8 **Dos vías que catabolizan la cisteína: la vía cisteína sulfinato (*arriba*) y la vía 3-mercaptopiruvato (*abajo*).**

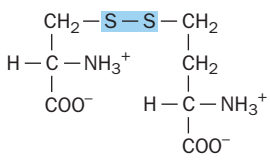


FIGURA 29-9 **Estructura del disulfuro mixto de cisteína y homocisteína.**

Un número considerable de defectos metabólicos dan como resultado homocistinurias que responden de manera positiva o de manera negativa a la vitamina B6. Estos incluyen una deficiencia en la reacción catalizada por la cistationina β-sintasa, EC 4.2.1.22:

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Las consecuencias incluyen osteoporosis y retraso mental. El transporte defectuoso de la cistina a través de un portador produce cistinosis (enfermedad por almacenamiento de cistina), con deposición de cristales de cistina en los tejidos, y mortalidad temprana por insuficiencia renal aguda. Los datos epidemiológicos y de otro tipo vinculan los niveles de homocisteína en plasma con el riesgo cardiovascular, pero el papel de la homocisteína como factor causal de riesgo cardiovascular sigue siendo controvertido.

Treonina

La treonina aldolasa (EC 4.1.2.5) divide la treonina en glicina y acetaldehído. El catabolismo de la glicina fue expuesto anteriormente. La oxidación de acetaldehído a acetato es seguida por la formación de acetil-CoA (figura 29-10).

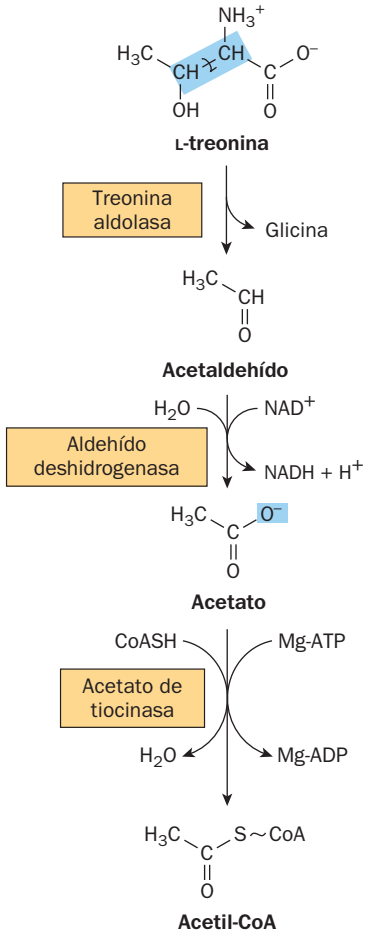


FIGURA 29-10 **Los intermediarios en la conversión de treonina en glicina y acetil-CoA.**

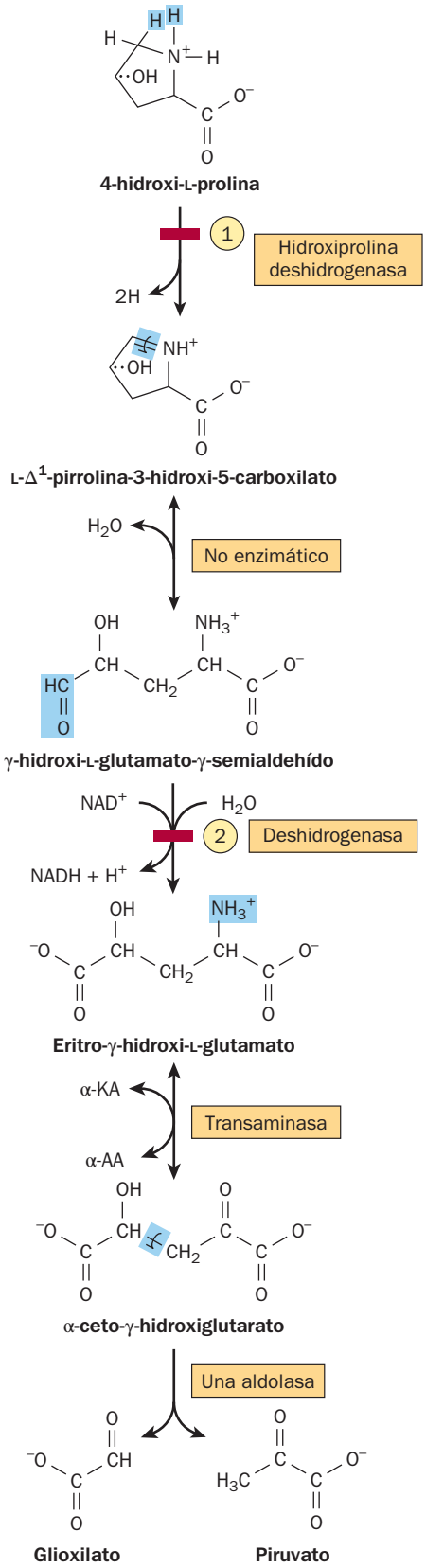


FIGURA 29-11 **Los intermediarios en el catabolismo de la hidroxiprolina.** (α-AA: α-aminoácido; α-KA: α-cetoácido). Las barras rojas indican los sitios de los defectos metabólicos hereditarios en (1) hiperhidroxiprolinemia y (2) hiperprolinemia tipo II.

4-hidroxiprolina

El catabolismo de la 4-hidroxi-L-prolina produce, de manera sucesiva, L-Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato, γ-hidroxi-L-glutamato-γ-semialdehído, eritro-γ-hidroxi-L-glutamato y α-ceto-γ-hidroxiglutarato. Una división tipo aldol produce después glioxilato y piruvato (figura 29-11). Un defecto en la **4-hidroxiprolina deshidrogenasa** produce la hiperhidroxiprolinamia, que es benigna. No hay deterioro asociado del catabolismo de la prolina. Un defecto en la **glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa** está acompañado por la excreción de Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato.

AMINOÁCIDOS ADICIONALES QUE FORMAN ACETIL-CoA

Tirosina

La **figura 29-12** ilustra los intermediarios y las enzimas que participan en el catabolismo de tirosina a anfibólicos intermedios. Tras la transaminación de tirosina a p-hidroxifenilpiruvato, reacciones sucesivas forman homogentisato, maleilacetoacetato, fumarilacetoacetato, fumarato, acetoacetato y, finalmente, acetil-CoA y acetato.

Varios trastornos metabólicos están asociados con la vía catabólica de la tirosina. El probable defecto metabólico en la **tirosinemia tipo I (tirosinosis)** es la **fumarilacetoacetato hidrolasa**, EC 3.7.1.12 (reacción 4, figura 29-12). La terapia emplea una dieta baja en tirosina y fenilalanina. La tirosinosis aguda y crónica no tratada conduce a la muerte por insuficiencia hepática. Los metabolitos alternativos de tirosina también se excretan en la **tirosinemia tipo II (síndrome de Richner-Hanhart)**, un defecto en la **tirosina aminotransferasa** (reacción 1, figura 29-12) y en la **tirosinemia neonatal**, debido a la actividad disminuida de la p-hidroxifenilpiruvato hidroxilasa, EC 1.13.11.27 (reacción 2, figura 29-12). La terapia emplea una dieta baja en proteínas.

El defecto metabólico en la **alcaptonuria** es la deficiencia de la **oxidasa homogentisato** (EC 1.13.11.5), la enzima que cataliza la reacción 3 de la figura 29-12. La orina se oscurece al exponerse al aire debido a la oxidación del homogentisato excretado. En la enfermedad avanzada existe artritis y pigmentación del tejido conectivo (ocronosis), debido a la oxidación de homogentisato a acetato de benzoquinona, que se polimeriza y se une al tejido conectivo. Descrita por primera vez en el siglo XVI, en base a la observación de que la orina se oscureció al exponerse al aire, la alcaptonuria sirvió de fundamento para las ideas clásicas de sir Archibald Garrod sobre los trastornos metabólicos hereditarios del siglo XX. Basado en la presencia de ocronosis y en la evidencia química, la detección del caso más antiguo de alcaptonuria se realizó en una momia egipcia que data de 1500 a.C.

Fenilalanina

La fenilalanina primero se convierte en tirosina (véase figura 27-12). Las reacciones posteriores son las de la tirosina (figura 29-12). Las **hiperfenilalaninemias** surgen de defectos en la fenilalanina hidroxilasa, EC 1.14.16.1 (**tipo I, fenilcetonuria clásica [PKU, *classic phenylketonuria*],** frecuencia 1 en 10 000 nacimientos), en la dihidrobiopterina reductasa (**tipos II y III**), o en la biosíntesis de la dihidrobiopterina (**tipos IV y V**) (véase figura 27-12). Los catabolitos alternativos se excretan (**figura 29-13**). Una dieta baja en fenilalanina puede prevenir el retraso mental de PKU.

Las sondas de DNA facilitan el diagnóstico prenatal de defectos en la fenilalanina hidroxilasa o en la dihidrobiopterina reductasa. La fenilalanina elevada en la sangre puede no ser detectable hasta 3 a 4 días después del parto. Sin embargo, los falsos positivos en bebés prematuros pueden reflejar un retraso en la maduración de las enzimas del catabolismo de la fenilalanina. Una prueba de detección más antigua y menos confiable emplea $FeCl_3$ para detectar el fenilpiruvato urinario. El pesquisaje con $FeCl_3$ para la fenilcetonuria (PKU) en la orina de los recién nacidos es obligatoria en muchos países, pero en Estados Unidos ha sido en gran medida suplantada por la espectrometría de masas en tándem.

Lisina

La eliminación del ε-nitrógeno de la lisina se produce a través de la formación inicial de **sacaropina** y las reacciones posteriores, que también liberan α-nitrógeno. El producto final del esqueleto de carbono es el crotonil-CoA. Los números circulares se refieren a las reacciones numeradas correspondientes en la **figura 29-14**. Las reacciones 1 y 2 convierten la base de Schiff, formada por α-cetoglutarato y grupo ε-amino de la lisina, en 1-α-aminoadipato-δ-semialdehído. Las reacciones 1 y 2 son catalizadas por una única enzima bifuncional, la aminoadipato-δ-semialdehído sintasa (EC 1.5.1.8) cuyos dominios *N*-terminal y *C*-terminal muestran la actividad de la lisina-α-cetoglutarato reductasa y la sacarina deshidrogenasa, respectivamente. La reducción de L-α-aminoadipato-δ-semialdehído a L-α-aminoadipato (reacción 3) es seguida por la transaminación a α-cetoadipato (reacción 4). La conversión a tioéster glutaril-CoA (reacción 5) es seguida por la descarboxilación de glutaril-CoA a crotonil-CoA (reacción 6). La crotanoil-CoA reductasa reduce el crotonil-CoA, EC 1.3.1.86, y forma butanoil-CoA:

$$\text{Crotonil-CoA} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{butanoil-CoA} + \text{NADP}^+$$

Las reacciones posteriores son las del catabolismo de los ácidos grasos (ver capítulo 22).

La hiperilinemia puede ser el resultado de un defecto metabólico en la primera o en la segunda actividad de la enzima bifuncional aminoadipato-δ-semialdehído sintasa, pero esto se acompaña de niveles elevados de sacaropina en sangre sólo si el defecto involucra a la segunda actividad. Un defecto metabólico en la reacción 6 da como resultado una enfermedad metabólica hereditaria que se asocia con la degeneración estriatal y cortical, y se caracteriza por concentraciones elevadas de glutarato y sus metabolitos: glutaconato y 3-hidroxiglutarato. El desafío en el manejo de estos defectos metabólicos es restringir la ingesta dietética de L-lisina sin producir malnutrición.

Triptófano

El triptófano se degrada a intermediarios anfibólicos a través de la vía cinurenina-antranilato (**figura 29-15**). La **triptófano 2,3-dioxigenasa**, EC 1.13.11.11 (**triptófano pirrolasa**) abre el anillo indólico, incorpora oxígeno molecular y forma *N*-formilquinurenina. La triptófano oxigenasa, una metaloproteína de la porfirina de hierro, inducible en el hígado por los glucocorticoides suprarrenales y el triptófano, es inhibida por los derivados del ácido nicotínico, incluido el NADPH. La eliminación hidrolítica del grupo formilo de la *N*-formilquinurenina, catalizada por la **cinurenina formilasa** (EC 3.5.1.9), produce cinurenina. Como la **quinureninasa** (EC 3.7.1.3)

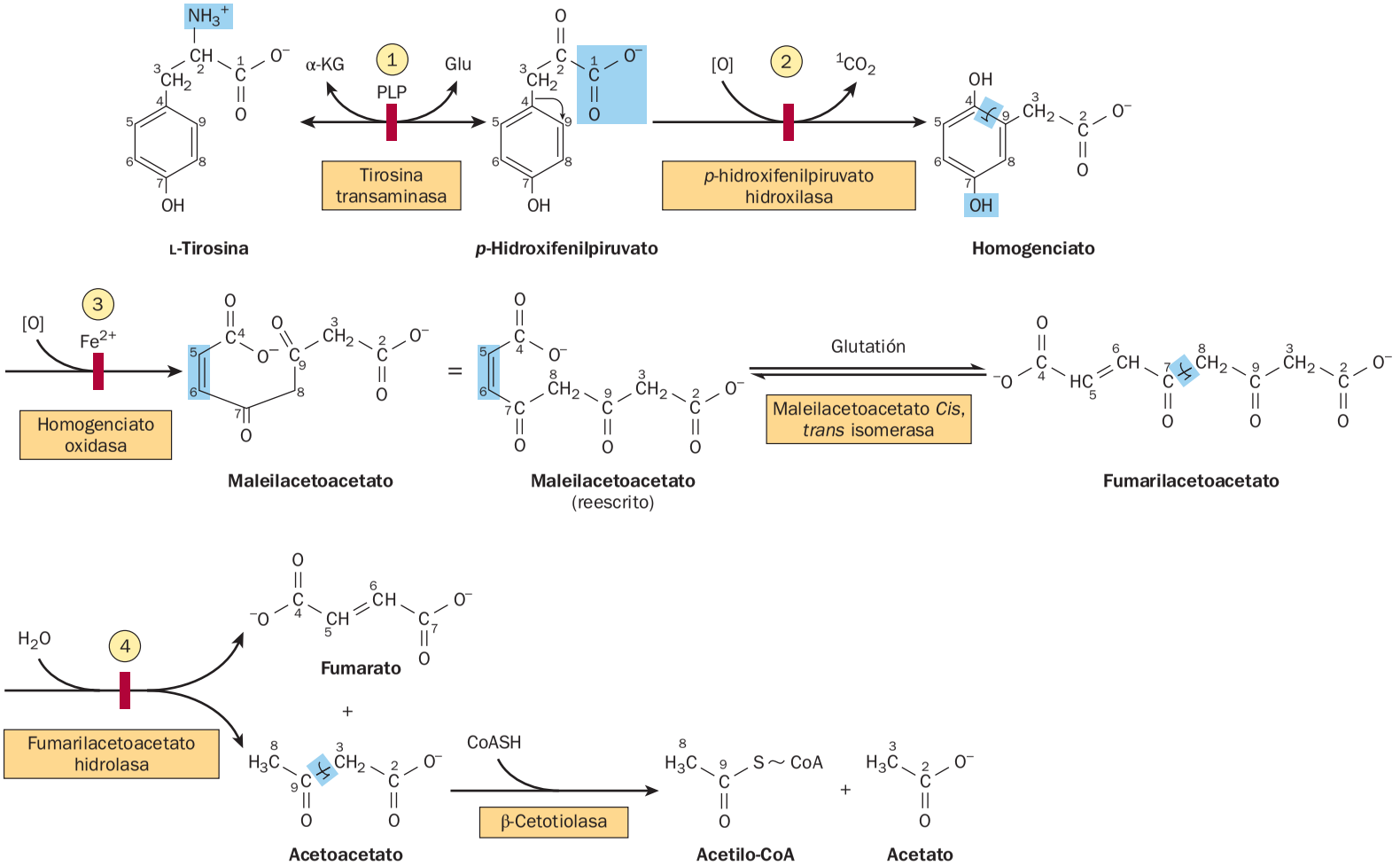


FIGURA 29-12 **Intermediarios en el catabolismo de la tirosina.** Los carbonos están numerados para enfatizar su destino final. (α-KG, α-cetoglutarato; glu, glutamato; PLP, piridoxal fosfato.) Las barras rojas indican los sitios probables de los defectos metabólicos hereditarios en la tirosinemia tipo II, tirosinemia neonatal, 1) alcaptonuria, 2) tirosinemia tipo I o tirosinosis, 3) alcaptonuria, 4) tirosinemia tipo I o tirosinosis.

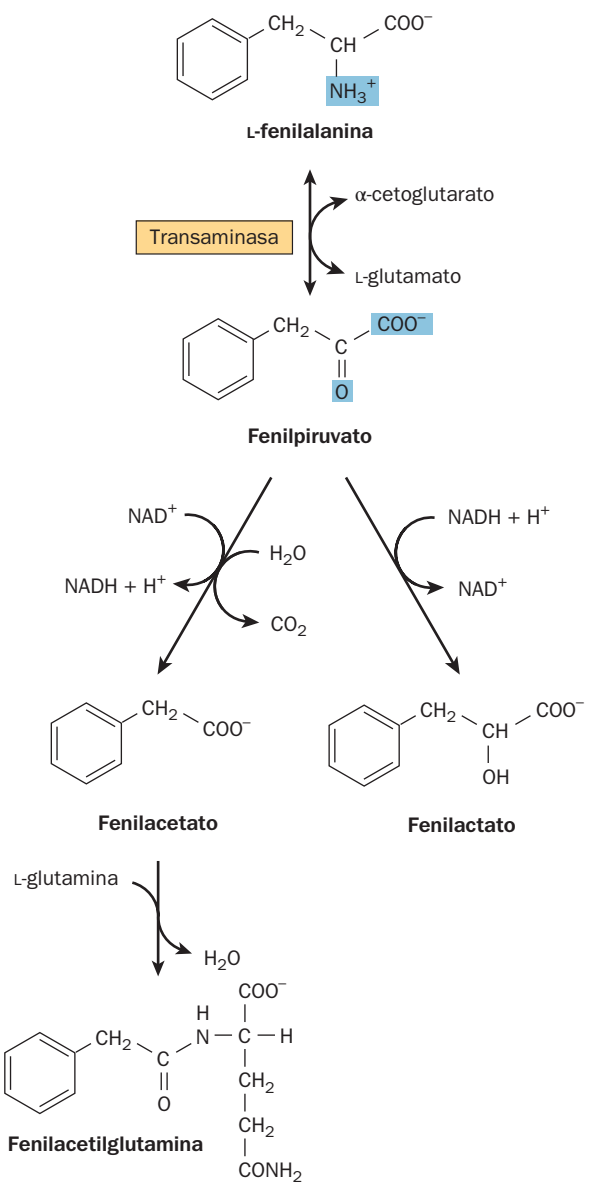


FIGURA 29-13 **Vías alternativas del catabolismo de fenilalanina a fenilcetonuria**. Estas reacciones también ocurren en el tejido hepático normal, pero tienen una importancia menor.

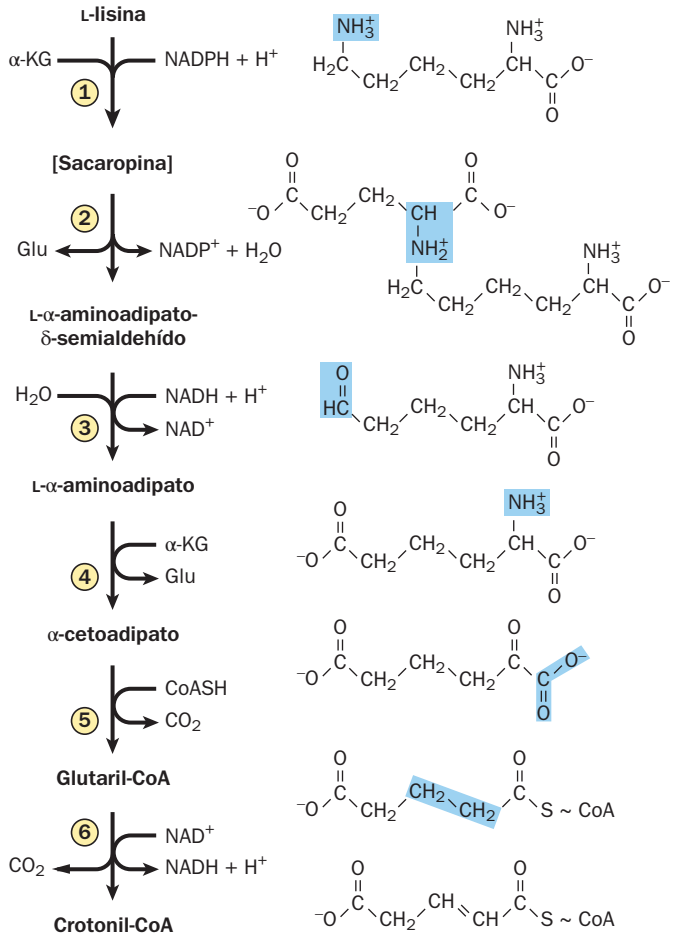


FIGURA 29-14 **Reacciones e intermediarios en el catabolismo de la lisina**.

requiere fosfato de piridoxal, la excreción de xanturetano en respuesta a una carga de triptófano (**figura 29-16**) permite diagnosticar la deficiencia de vitamina B6. La **enfermedad de Hartnup** refleja un transporte intestinal y renal alterado de triptófano y otros aminoácidos neutros. Se excretan los derivados indol del triptófano no absorbido formado por bacterias intestinales. El defecto limita la disponibilidad de triptófano para la biosíntesis de niacina y explica los signos y síntomas similares a la pelagra.

Metionina

La metionina reacciona con el ATP formando *S*-adenosilmetionina, "metionina activa" (figura 29-17). Las reacciones posteriores forman propionil-CoA (figura 29-18), cuya conversión a succinil-CoA se produce a través de las reacciones 2, 3 y 4 de la figura 19-2.

LAS REACCIONES INICIALES SON COMUNES EN LOS TRES AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Las primeras tres reacciones del catabolismo de la isoleucina, la leucina y la valina (**figura 29-19**) son análogas a las reacciones del catabolismo de los ácidos grasos (véase la **figura 22-3**). Después de la transaminación (figura 29-19, reacción 1), los esqueletos de carbono de los α-cetoácidos resultantes se someten a descarboxilación oxidativa y conversión a tioésteres de la coenzima A. Este proceso de pasos múltiples es catalizado por el **complejo mitocondrial de cadena ramificada α-cetoácido deshidrogenasa**, cuyos componentes son funcionalmente idénticos a los del complejo de piruvato deshidrogenasa (PDH, *pyruvato dehydrigenase complex*) (véase **figura 18-5**). Al igual que el PDH, el complejo α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada consta de cinco componentes.

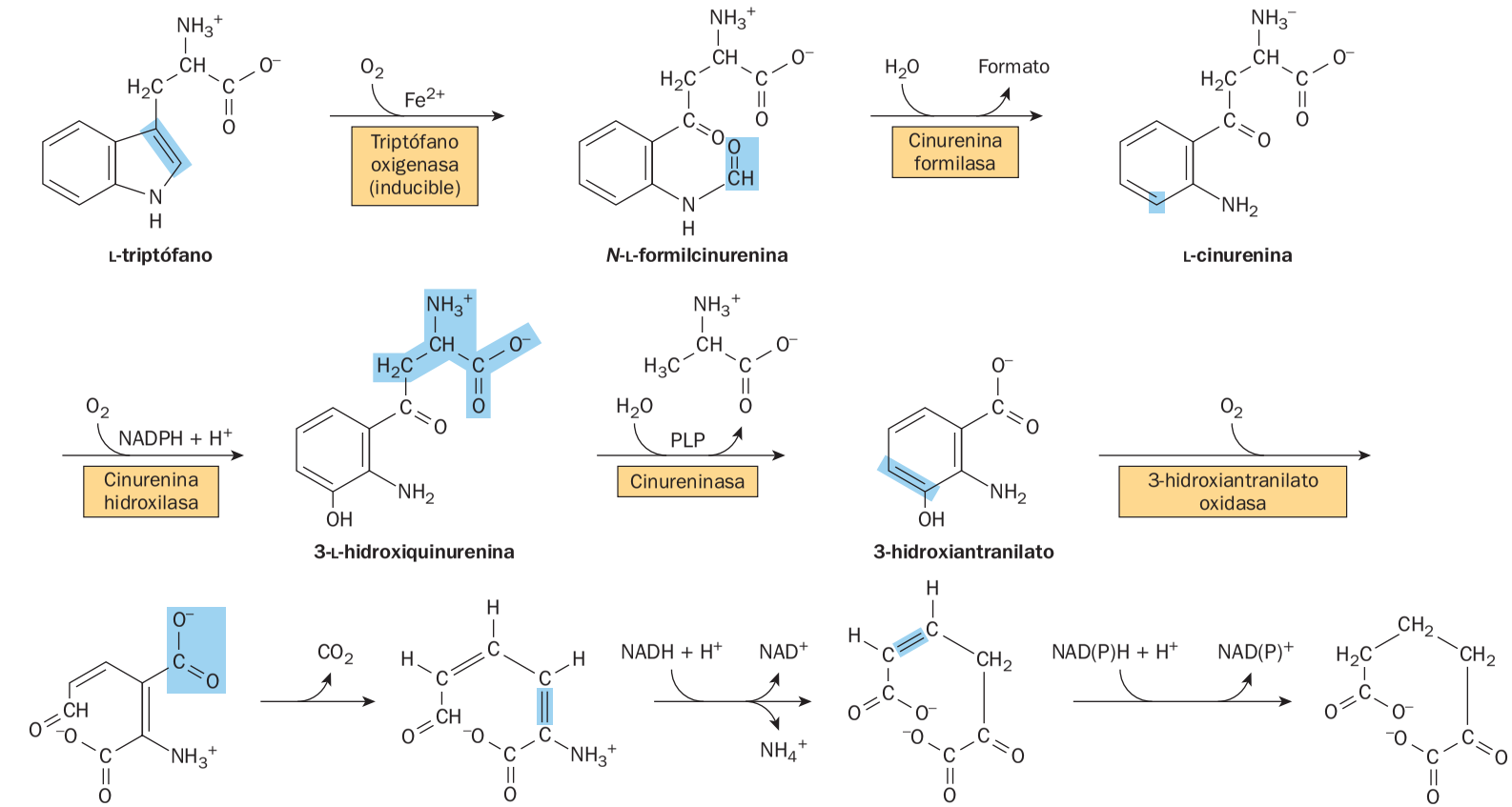


FIGURA 29-15 **Reacciones e intermediarios en el catabolismo del triptófano** (PLP, *pyridoxal phosphate*, fosfato de piridoxal).

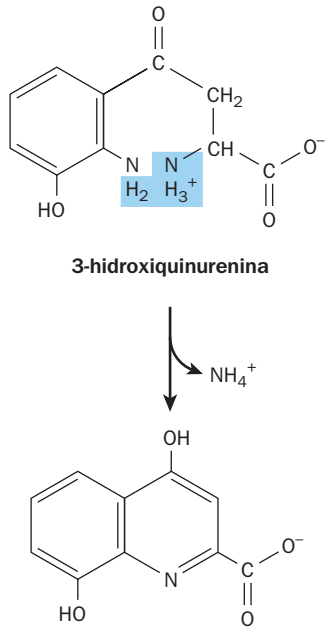


FIGURA 29-16 Formación de xanturetano en la deficiencia de vitamina B6. Hay alteración en la conversión del metabolito triptófano 3-hidroxiquinurenina a 3-hidroxiantranilato (véase figura 29-15). Por tanto, una gran parte se convierte en xanturenato.

E1: tiamina pirofosfato (TPP, *thiamin pyrophosphate*) dependiente α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada

E2: dihidrolipoil transacilasa (contiene lipoamida)

E3: dihidrolipoamida deshidrogenasa (contiene FAD)

Proteína quinasa

Proteína fosfatasa

En cuanto a la piruvato deshidrogenasa, la proteína quinasa y la proteína fosfatasa regulan la actividad del complejo α-cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada mediante la fosforilación (inactivación) y desfosforilación (activación).

La deshidrogenación de los tioésteres resultantes de la coenzima A (reacción 3, figura 29-19) prosigue de manera similar a la deshidrogenación de los tioésteres de acil-CoA grasos derivados de lípidos (véase el capítulo 22). Las reacciones posteriores, únicas para cada esqueleto de aminoácido, aparecen en las **figuras 29-20, 29-21 y 29-22**.

TRASTORNOS METABÓLICOS DEL CATABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Como su nombre lo indica, en la **enfermedad urinaria del jarabe de arce** (**cetonuria de cadena ramificada** o **MSUD,** *branched-chain ketonuria*), el olor de la orina sugiere el jarabe de arce o azúcar quemada. El defecto bioquímico en la MSUD implica el **complejo α-cetoácido descarboxilasa** (reacción 2, figura 29-19). Los niveles plasmáticos y urinarios de leucina, isoleucina, valina y sus α-cetoácidos y α-hidroxiácidos (α-cetoácidos reducidos) son elevados, pero los cetoácidos urinarios se derivan principalmente de la leucina. Los signos y síntomas de la MSUD a menudo incluyen cetoacidosis fatal, trastornos neurológicos, retraso mental y olor a jarabe de arce en la orina. El diagnóstico temprano por análisis enzimático es esencial para evitar daño cerebral y muerte prematura a través del reemplazo del consumo de proteínas en la dieta por una mezcla de aminoácidos que carezca de leucina, isoleucina y valina.

La genética molecular de la MSUD es heterogénea. La MSUD puede ser el resultado de mutaciones en los genes que codifican E1α, E1β, E2 y E3. Los subtipos genéticos del MSUD se reconocen por el lugar afectado. El tipo IA MSUD surge de mutaciones en el gen *E1α*; el tipo IB, en el gen *E1β*; el tipo II, en el gen *E2*, y el tipo III surge en el gen *E3* (**cuadro 29-2**). En la **cetonuria intermitente de cadena ramificada**, la α-cetoácido descarboxilasa conserva algo de actividad, por eso los síntomas aparecen en una etapa posterior de la vida. En la **acidemia isovalérica**, la ingestión de alimentos ricos en proteínas eleva el isovalerato, el producto de la desacilación de la isovaleril-CoA. La enzima alterada en la **acidemia isovalérica** es la **isovaleril-CoA deshidrogenasa**, EC 1.3.8.4 (reacción 3, figura 29-19). La ingestión en exceso de proteínas es seguida de vómitos, acidosis y estado de coma. La isovaleril-CoA acumulada se hidroliza a isovalerato y se excreta.

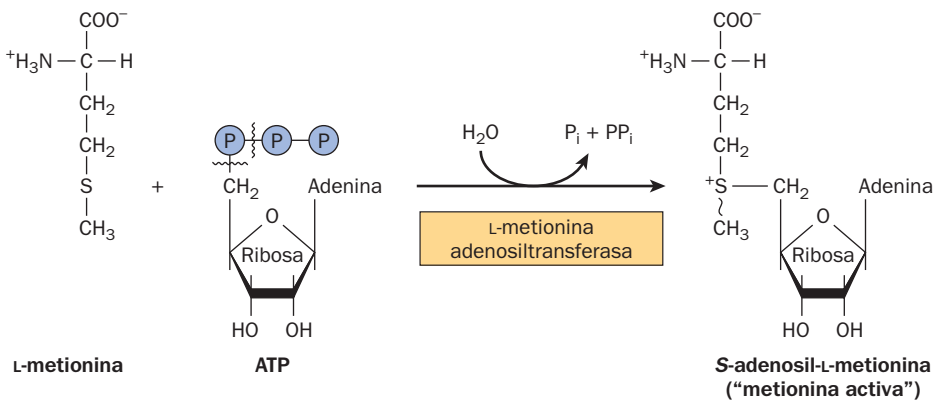


FIGURA 29-17 Formación de la *S*-adenosilmetionina. ~CH_3 representa el potencial de transferencia de grupo elevado de la "metionina activa".

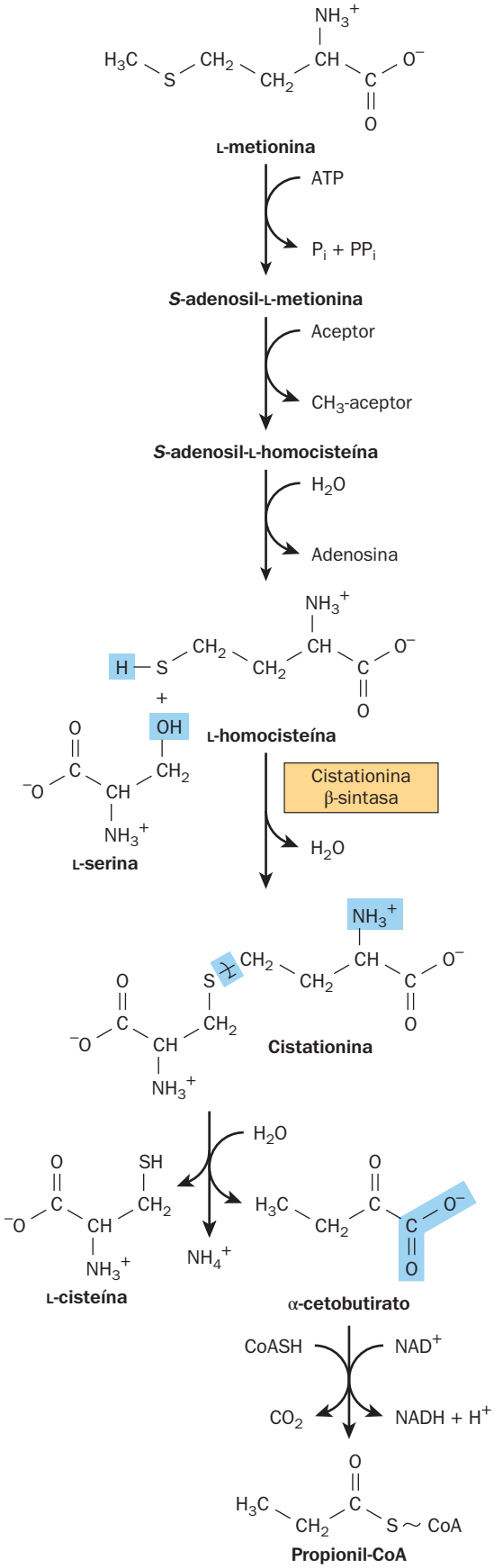


FIGURA 29-18 **Conversión de metionina en propionil-CoA.**

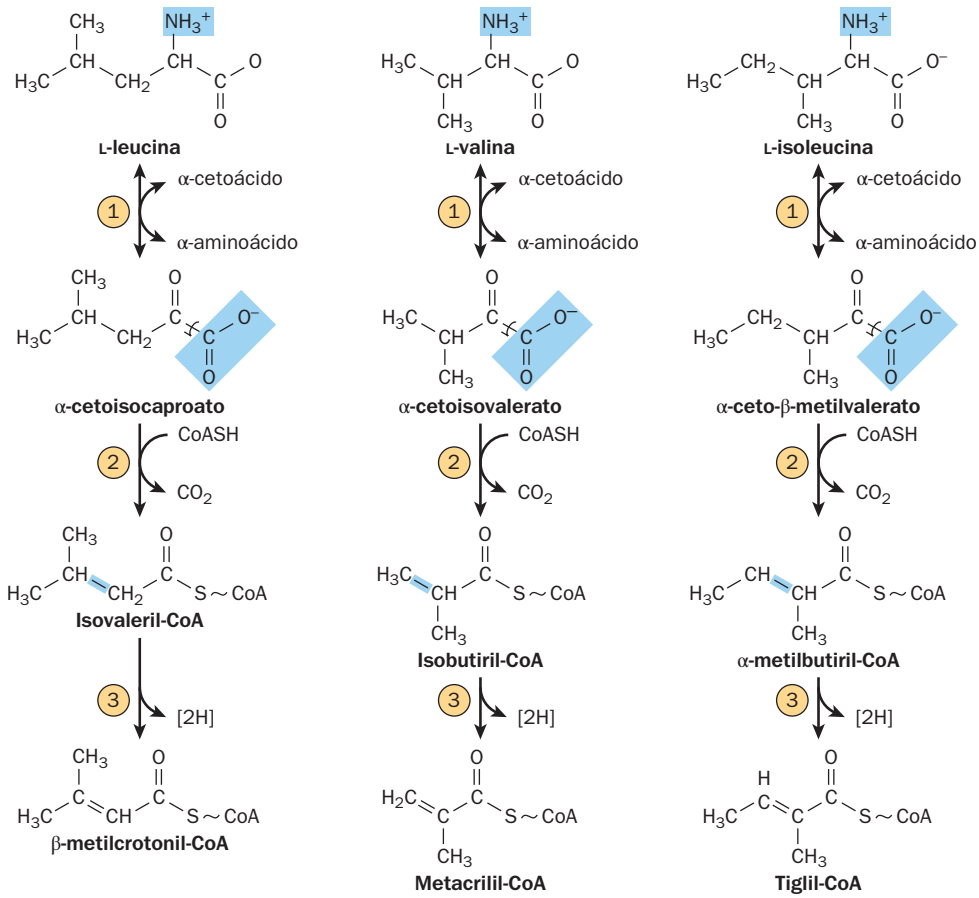


FIGURA 29-19 **Las tres primeras reacciones en el catabolismo de leucina, valina e isoleucina.** Obsérvese la analogía entre las reacciones 2 y 3, y las reacciones del catabolismo de los ácidos grasos (véase la figura 22-3). La analogía con el catabolismo de ácidos grasos prosigue, como se muestra en las figuras siguientes.

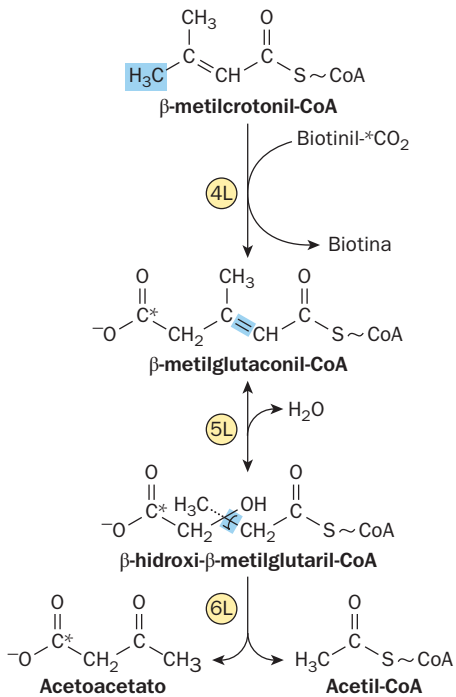


FIGURA 29-20 **Catabolismo de la β-metilcrotonil-CoA formada a partir de L-leucina**. Los asteriscos indican átomos de carbono derivados del CO_2.

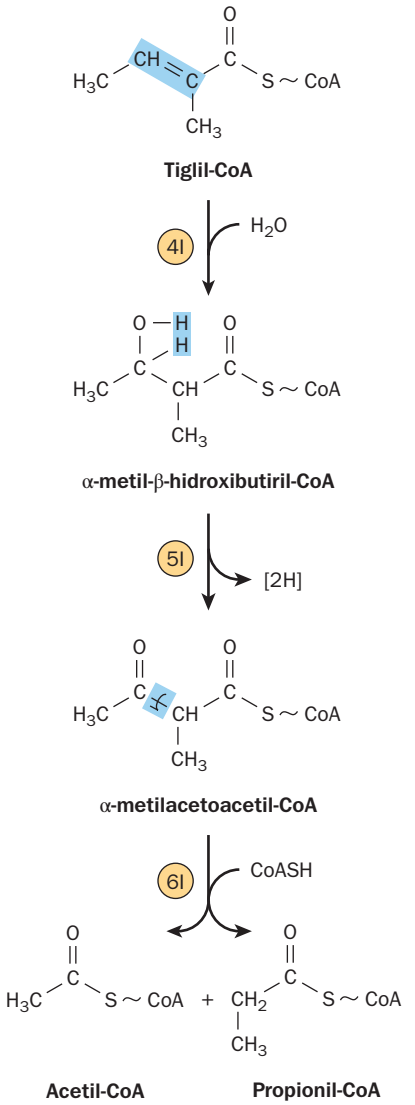


FIGURA 29-21 **Catabolismo posterior del tiglil-CoA formado a partir de L-isoleucina.**

CUADRO 29-2 **La enfermedad urinaria del jarabe de arce puede reflejar la función deteriorada de diversos componentes del complejo α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada**

Componente del α-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		Referencia OMIM[a]	Enfermedad urinaria del jarabe de arce
E1α	α-cetoácido descarboxilasa	608348	Tipo 1A
E1β	α-cetoácido descarboxilasa	248611	Tipo 1B
E2	Dihidrolipoil transacilasa	608770	Tipo II
E3	Dihidrolipoamida deshidrogenasa	238331	Tipo III

[a] Base de datos en línea de herencia mendeliana en el hombre: ncbi.nlm.nih.gov/omim/.

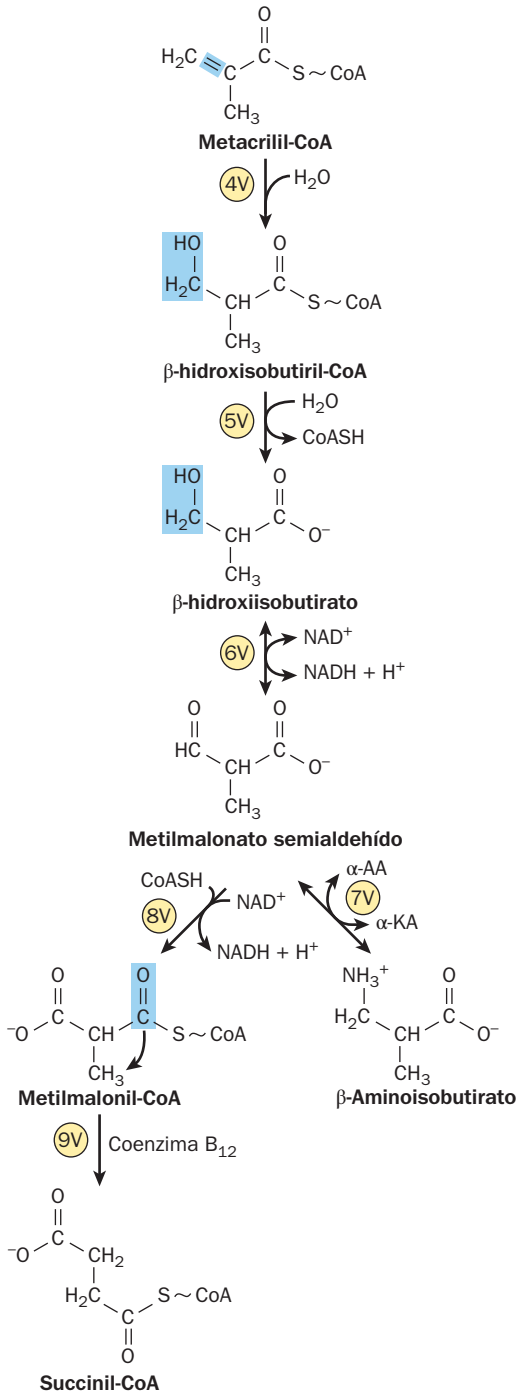


FIGURA 29-22 **Catabolismo posterior del metacrilato-CoA formado a partir de L-valina (véase figura 29-19).** (α-AA: α-aminoácido; α-KA: α-cetoácido.)

El **cuadro 29-3** resume los trastornos metabólicos asociados con el catabolismo de aminoácidos y enumera la enzima afectada, su número en el catálogo de enzimas IUB (EC), una referencia cruzada a una figura específica, una reacción numerada en este texto y un enlace numérico a la base de datos en línea de Herencia Mendeliana en el Hombre (**OMIM**, *online mendelian inheritance in man database*).

CUADRO 29-3 Enfermedades metabólicas del metabolismo de aminoácidos

Enzima defectuosa	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM[a]	Principales signos y síntomas	Número de figura y reacción
S-adenosilhomocisteína hidrolasa	3.3.1.1	180960	Hipermetioninemia	29–18 ③
Arginasa	3.5.3.1	207800	Argininemia	29–3 ①
Cistationina-β-sintasa	4.2.1.22	236200	Homocistinuria	29–18 ④
Fumarilacetoacetato hidrolasa	3.7.1.12	276700	Tirosinemia tipo I (tirosinosis)	29–12 ④
Histidina amoniaco liasa (histidasa)	4.3.1.3	609457	Histidinemia y acidemia urocánica	29–4 ①
Homogenciato oxidasa	1.13.11.5	607474	Alcaptonuria. Excreción de homogentisato	29–12 ③
p-hidroxifenilpiruvato hidroxilasa	1.13.11.27	276710	Tirosinemia neonatal	29–12 ③
Isovaleril-CoA deshidrogenasa	1.3.8.4	607036	Acidemia isovalérica	29–19 ③
Complejo a-cetoácido descarboxilasa de cadena ramificada		248600	Cetonuria de cadena ramificada (MSUD)	29–19 ①
Metionina adenosiltransferasa	2.5.1.6	250850	Hipermetioninemia	29–17 ①
Ornitina-δ-aminotransferasa	2.6.1.13	258870	Ornitemia, atrofia girada	29–3 ②
Fenilalanina hidroxilasa	1.14.16.1	261600	Fenilcetonuria tipo I (clásica)	27–9 ①
Prolina deshidrogenasa	1.5.5.2	606810	Hiperprolinemia tipo I	29–2 ①
Δ^1-pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa	1.2.1.88	606811	Hiperprolinemia tipo II e hiper 4-hidroxiprolinemia	29–2 ②
Sacaropina deshidrogenasa	1.5.1.7	268700	Sacaropinuria	29–14 ②
Tirosina aminotransferasa	2.6.1.5	613018	Tirosinemia tipo II	29–12 ①

[a] Base de datos en línea de herencia mendeliana en el hombre: ncbi.nlm.nih.gov/omim/.

RESUMEN

- El exceso de aminoácidos se cataboliza a intermediarios anfibólicos, que sirven como fuente de energía o para la biosíntesis de carbohidratos y lípidos.
- La transaminación es la reacción inicial más común en el catabolismo de aminoácidos. Las reacciones posteriores eliminan cualquier nitrógeno adicional y reestructuran los esqueletos de hidrocarburos para la conversión a oxalacetato, α-cetoglutarato, piruvato y acetil-CoA.
- Las enfermedades metabólicas asociadas con el catabolismo de la glicina incluyen la glicinuria y la hiperoxaluria primaria.
- La cisteína se convierte en piruvato por dos vías distintas. Los trastornos metabólicos del catabolismo de la cisteína incluyen la cistina-lisonuria, la enfermedad de almacenamiento de cistina y la homocistinuria.
- El catabolismo de la treonina se combina con el de la glicina después que la treonina aldolasa divide la treonina a glicina y acetaldehído.
- Tras la transaminación, el esqueleto de carbono de la tirosina se degrada a fumarato y acetoacetato. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la tirosina incluyen tirosinosis, síndrome de Richner-Hanhart, tirosinemia neonatal y alcaptonuria.
- Los trastornos metabólicos del catabolismo de la fenilalanina incluyen PKU y varias hiperfenilalaninemias.
- Ningún nitrógeno de la lisina participa en la transaminación. Sin embargo, se logra el mismo efecto neto por la formación intermedia de sacaropina. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la lisina incluyen formas periódicas y persistentes de hiperlisinemia-amonemia.
- El catabolismo de la leucina, la valina y de la isoleucina presentan muchas analogías con el catabolismo de los ácidos grasos. Los trastornos metabólicos del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada incluyen hipervalinemia, enfermedad urinaria del jarabe de arce, cetonuria intermitente de cadena ramificada, acidemia isovalérica y aciduria metilmalónica.

REFERENCIAS

Bliksrud YT, Brodtkorb E, Andresen PA, *et al*. Tyrosinemia type I, *de novo* mutation in liver tissue suppressing an inborn splicing defect. *J Mol Med* 2005;83-406.

Dobrowolski SF, Pey AL, Koch R, *et al*. Biochemical characterization of mutant phenylalanine hydroxylase enzymes and correlation with clinical presentation in hyperphenylalaninaemic patients. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:10.

Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem* 2006;39-315.

Geng J, Liu A. Heme-dependent dioxygenases in tryptophan oxidation. *Arch Biochem Biophys* 2014;44:18.

Heldt K, Schwahn B, Marquardt I, *et al*. Diagnosis of maple syrup urine disease by newborn screening allows early intervention without extraneous detoxification. *Mol Genet Metab* 2005;84-313.

Houten SM, Te Brinke H, Denis S, *et al*. Genetic basis of hyperlysinemia. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8-57.

Lamp J, Keyser B, Koeller DM, *et al*. Glutaric aciduria type 1 metabolites impair the succinate transport from astrocytic to neuronal cells. *J Biol Chem* 2011;286:17-777.

Mayr JA, Feichtinger RG, Tort F, *et al*. Lipoic acid biosynthesis defects. *J Inherit Metab Dis* 2014;37-553.

Nagao M, Tanaka T, Furujo M. Spectrum of mutations associated with methionine adenosyltransferase I/III deficiency among individuals identified during newborn screening in Japan. *Mol Genet Metab* 2013;110-460.

Stenn FF, Milgram JW, Lee SL, *et al*. Biochemical identification of homogentisic acid pigment in an ochronotic Egyptian mummy. *Science* 1977;197-566.

Tondo M, Calpena E, Arriola G, *et al*. Clinical, biochemical, molecular and therapeutic aspects of 2 new cases of 2-aminoadipic semialdehyde synthase deficiency. *Mol Genet Metab* 2013;110-231.

CAPÍTULO

30

Conversión de aminoácidos en productos especializados

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Citar ejemplos de cómo los aminoácidos participan en una variedad de procesos biosintéticos además de la síntesis de proteínas.
- Resumir cómo la arginina participa en la biosíntesis de creatina, óxido nítrico (NO, *nitric oxide*), putrescina, espermina y espermidina.
- Indicar la contribución de la cisteína y de la β-alanina a la estructura de la coenzima A.
- Discutir el papel desempeñado por la glicina en el catabolismo y la excreción de medicamentos.
- Documentar el papel de la glicina en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y sarcosina.
- Identificar la reacción que convierte un aminoácido en el neurotransmisor histamina.
- Documentar el papel de la *S*-adenosilmetionina en el metabolismo.
- Reconocer las estructuras de los metabolitos de triptófano, la serotonina, la melatonina, la triptamina y el 3-acetato de indol.
- Describir cómo la tirosina origina norepinefrina y epinefrina.
- Ilustrar las funciones clave de peptidil serina, treonina y tirosina en la regulación metabólica de las vías de transducción de señales.
- Esbozar los papeles de la glicina, la arginina y la *S*-adenosilmetionina en la biosíntesis de la creatina.
- Explicar el papel del fosfato de creatina en la homeostasis energética.
- Ilustrar la formación de γ-aminobutirato (GABA) y los trastornos metabólicos raros asociados con defectos en el catabolismo de ácido gamma amino butírico (GABA, *gamma amino butyric acid*).

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Ciertas proteínas contienen aminoácidos que han sido modificados postraduccionalmente para permitirles realizar funciones específicas. Los ejemplos incluyen la carboxilación de glutamato para formar γ-carboxiglutamato, que funciona en la unión de Ca^{2+}, la hidroxilación de la prolina para la incorporación en la triple hélice de colágeno y la hidroxilación de la lisina hacia 5-hidroxilisina, cuya modificación y entrecruzamiento subsiguientes estabilizan las fibras de colágeno en maduración. Además de servir como bloques de construcción para la síntesis de proteínas, los aminoácidos sirven como precursores de materiales biológicos tan diversos e importantes como hem, purinas, pirimidinas, hormonas, neurotransmisores y péptidos biológicamente activos. La histamina juega un papel central en muchas reacciones alérgicas. Los neurotransmisores derivados de aminoácidos incluyen γ-aminobutirato (GABA), 5-hidroxitriptamina (serotonina), dopamina, norepinefrina y epinefrina. Muchos medicamentos utilizados para tratar afecciones neurológicas y psiquiátricas actúan alterando el metabolismo de estos neurotransmisores. A continuación se discuten las funciones metabólicas y metabolismo de los α-aminoácidos y no α-aminoácidos seleccionados.

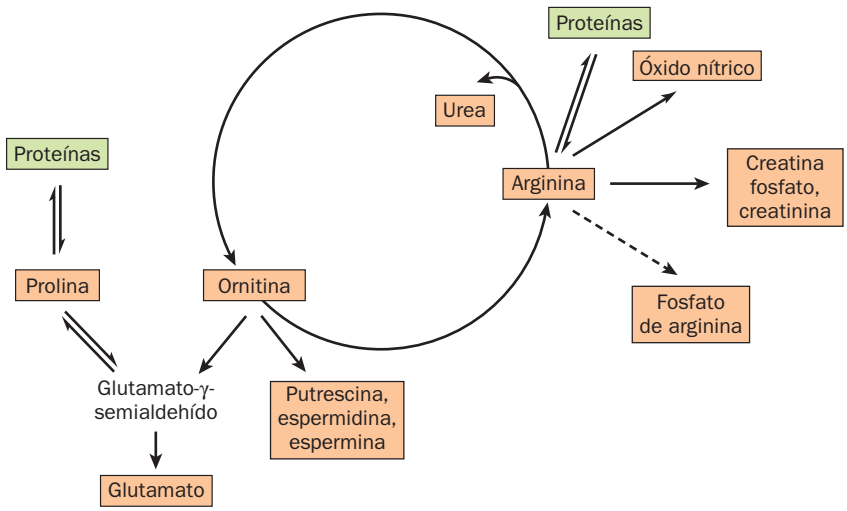


FIGURA 30-1 Metabolismo de la arginina, la ornitina y la prolina. Las reacciones con flechas sólidas ocurren todas en tejidos de mamíferos. La síntesis de putrescina y espermina ocurre tanto en mamíferos como en las bacterias. El fosfato de arginina del músculo invertebrado funciona como un fosfágeno análogo al fosfato de creatina del músculo de los mamíferos.

L-α-AMINOÁCIDOS

Alanina

La alanina sirve como un transportador de amoniaco y de los carbonos de piruvato desde el músculo esquelético hasta el hígado a través del ciclo Cori (véanse capítulos 19 y 28), y junto con la glicina constituye una fracción importante de los aminoácidos libres en el plasma.

Arginina

La **figura 30-1** resume los destinos metabólicos de la arginina. Además de servir como portador de átomos de nitrógeno en la biosíntesis de la urea (véase figura 28-16), el grupo guanidino de la arginina se incorpora a la creatina, y luego de la conversión a ornitina, su esqueleto de carbono se convierte en el de las poliaminas putrescina y espermina (véase abajo).

La reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa, EC 1.14.13.39 (**figura 30-2**), una oxidorreductasa de cinco electrones con múltiples cofactores, convierte un nitrógeno del grupo guanidina de arginina en l-ornitina y óxido nítrico, una molécula de señalización intercelular que sirve como neurotransmisor, relajante de músculo liso y vasodilatador (véase capítulo 51).

Cisteína

La cisteína participa en la biosíntesis de la coenzima A (véase capítulo 44) al reaccionar con el pantotenato para formar 4-fosfopantotenoil-cisteína. La taurina, formada a partir de la cisteína, puede desplazar la fracción de la coenzima A de la colil-CoA para formar

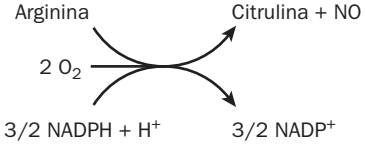


FIGURA 30-2 La reacción catalizada por óxido nítrico sintasa.

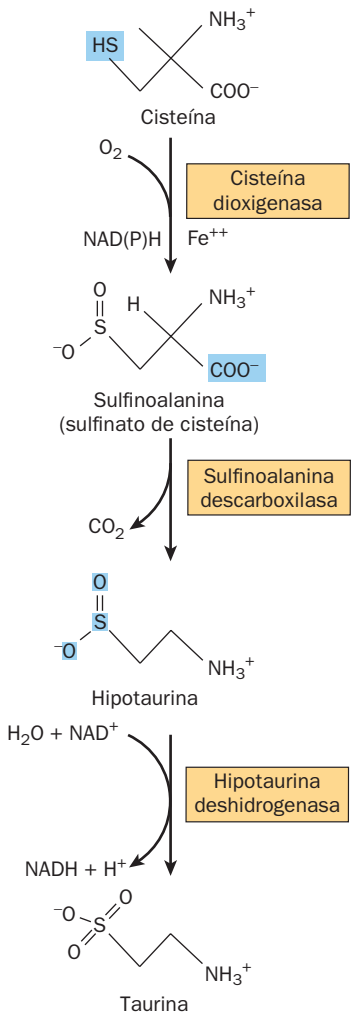


FIGURA 30-3 Conversión de cisteína en taurina. Las reacciones son catalizadas por cisteína dioxigenasa, cisteína sulfinato descarboxilasa e hipotaurina descarboxilasa, respectivamente.

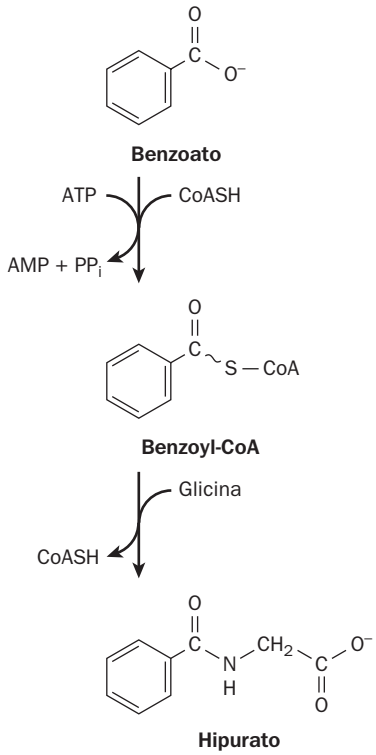


FIGURA 30-4 **Biosíntesis de hipurato.** Las reacciones análogas ocurren con muchas drogas ácidas y catabolitos.

el ácido biliar ácido taurocólico (véase capítulo 26). La conversión de cisteína en taurina implica la catálisis por la enzima Fe^{2+} no hem cisteína dioxigenasa (EC 1.13.11.20), sulfinoalanina descarboxilasa (EC 4.1.1.29) e hipotaurina deshidrogenasa (EC 1.8.1.3) (**figura 30-3**).

Glicina

Muchos metabolitos relativamente apolares se convierten en conjugados de glicina solubles en agua. Un ejemplo es el ácido hipúrico formado a partir del aditivo alimenticio benzoato (**figura 30-4**). Muchas drogas, metabolitos de drogas y otros compuestos con grupos carboxilo están conjugados de glicina. Esto los hace más solubles en agua y, por tanto, facilita su excreción en la orina.

La glicina se incorpora a la creatina, y el nitrógeno y el carbono α de la glicina se incorporan a los anillos de pirrol y los carbonos del puente de metileno del hem (véase capítulo 31) y toda la molécula de glicina se convierte en los átomos 4, 5 y 7 de las purinas (véase figura 33-1).

Histidina

La descarboxilación de histidina a histamina es catalizada por la enzima dependiente de piridoxal 5'-fosfato histidina descarboxilasa, EC 4.1.1.22 (**figura 30-5**). Una amina biogénica que funciona en las reacciones alérgicas y la secreción gástrica, la histamina está presente en todos los tejidos. Su concentración en el hipotálamo del cerebro varía de acuerdo con un ritmo circadiano. Los compuestos de histidina presentes en el cuerpo humano incluyen carnosina y ergotioneína y anserina derivadas de la dieta (**figura 30-6**). La carnosina (β-alanil-histidina) y la homocarnosina (γ-aminobutiril-histidina) son los principales constituyentes de los tejidos excitables, el cerebro y el músculo esquelético. Los niveles urinarios de 3-metilhistidina son inusualmente bajos en pacientes con la **enfermedad de Wilson**.

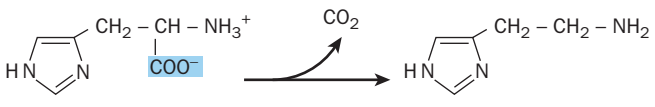


FIGURA 30-5 **La reacción catalizada por histidina descarboxilasa.**

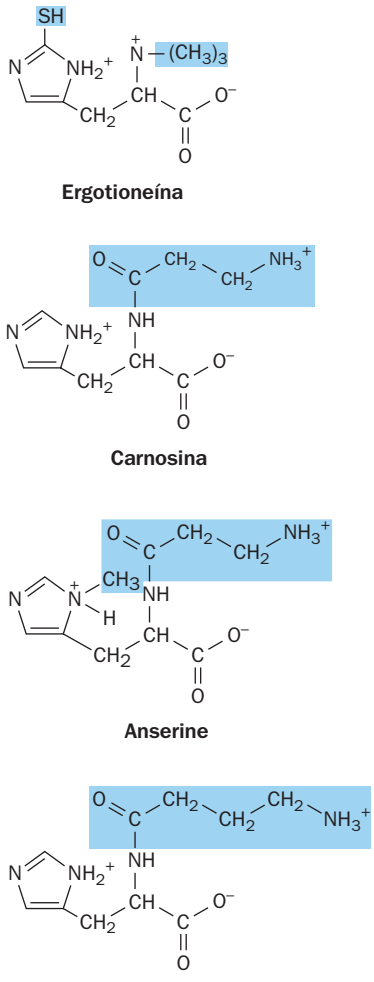
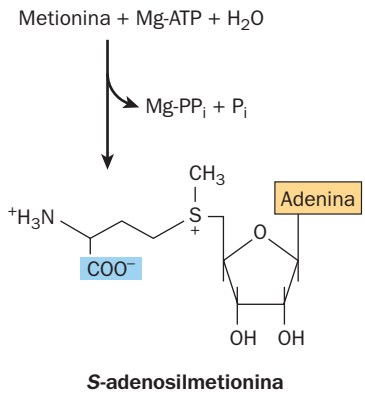


FIGURA 30-6 **Derivados de histidina.** Las cajas de colores rodean los componentes no derivados de histidina. El grupo SH de ergotioneína se deriva de la cisteína.

Metionina

El principal destino no proteico de la metionina es la conversión a *S*-adenosilmetionina, la principal fuente de grupos metilo en el cuerpo. La biosíntesis de *S*-adenosilmetionina a partir de metionina y el trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) está catalizada por metionina adenosiltransferasa (MAT, *methionine adenosyltransferase*), EC 2.5.1.6 (**figura 30-7**). Los tejidos humanos contienen tres isoenzimas MAT: MAT-1 y MAT-3 de hígado y MAT-2



***S*-adenosilmetionina**

FIGURA 30-7 **Biosíntesis de *S*-adenosilmetionina, catalizada por metionina adenosiltransferasa.**

de tejidos no hepáticos. Aunque la **hipermetioninemia** puede ser el resultado de una actividad hepática MAT-1 y MAT-3 severamente disminuida, si hay actividad MAT-1 o MAT-3 residual y la actividad MAT-2 es normal, una concentración tisular alta de metionina asegurará la síntesis de cantidades adecuadas de *S*-adenosilmetionina.

Después de la descarboxilación de la *S*-adenosilmetionina por metionina descarboxilasa (EC 4.1.1.57), tres carbonos y el grupo α-amino de la metionina contribuyen a la biosíntesis de las poliaminas **espermina y espermidina**. Estas poliaminas funcionan en la proliferación y crecimiento celular, son factores de crecimiento para células de mamífero cultivadas y estabilizan las células intactas, orgánulos subcelulares y membranas. Las dosis farmacológicas de poliaminas son hipotérmicas e hipotensoras. Como tienen múltiples cargas positivas, las poliaminas se asocian fácilmente con el ácido desoxirribonucleico DNA (*deoxyribonucleic acid*) y el ácido ribonucleico (RNA, *ribonucleic acid*). La **figura 30-8** resume la bio-

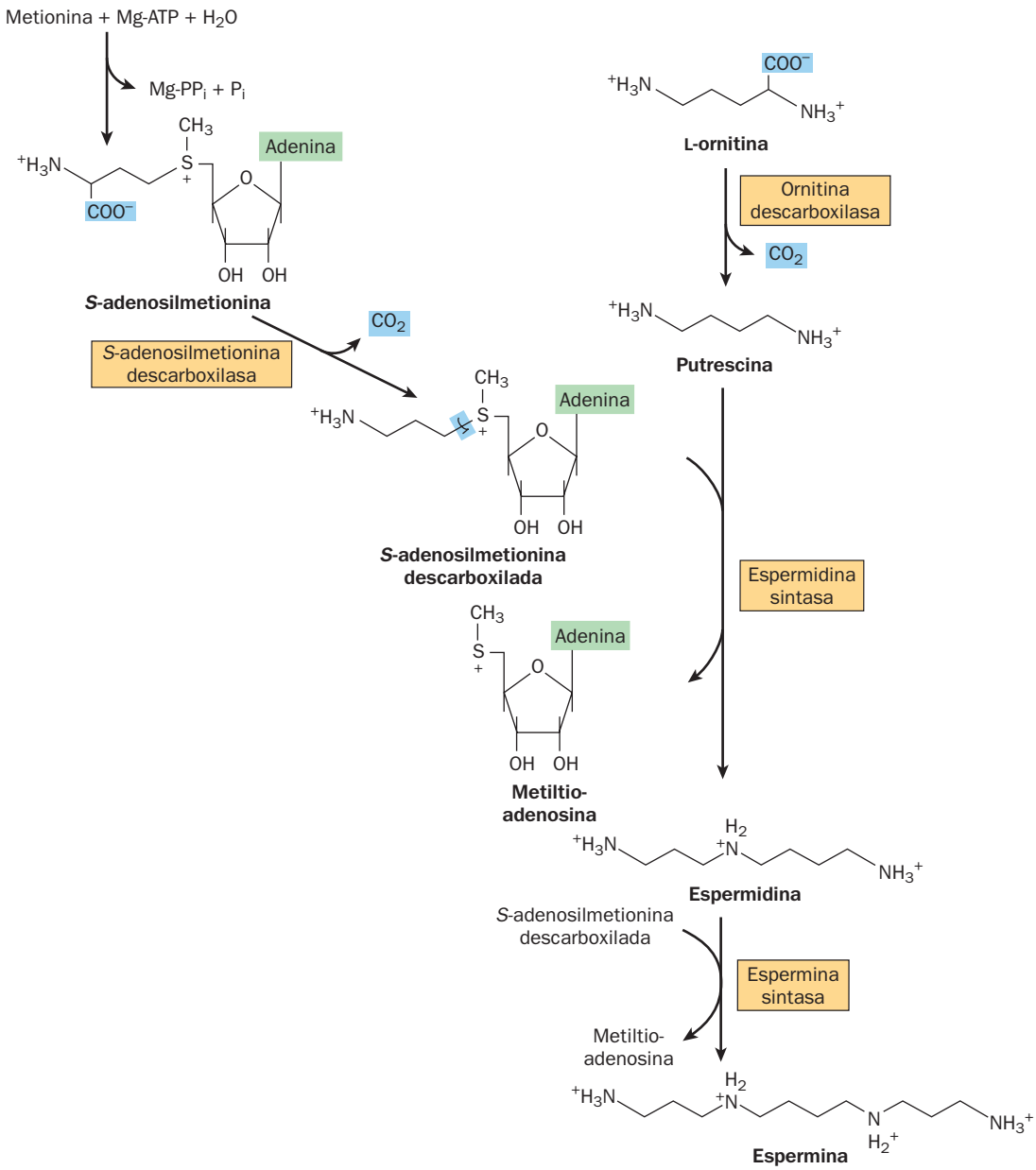


FIGURA 30-8 **Intermedios y enzimas que participan en la biosíntesis de espermidina y espermina.**

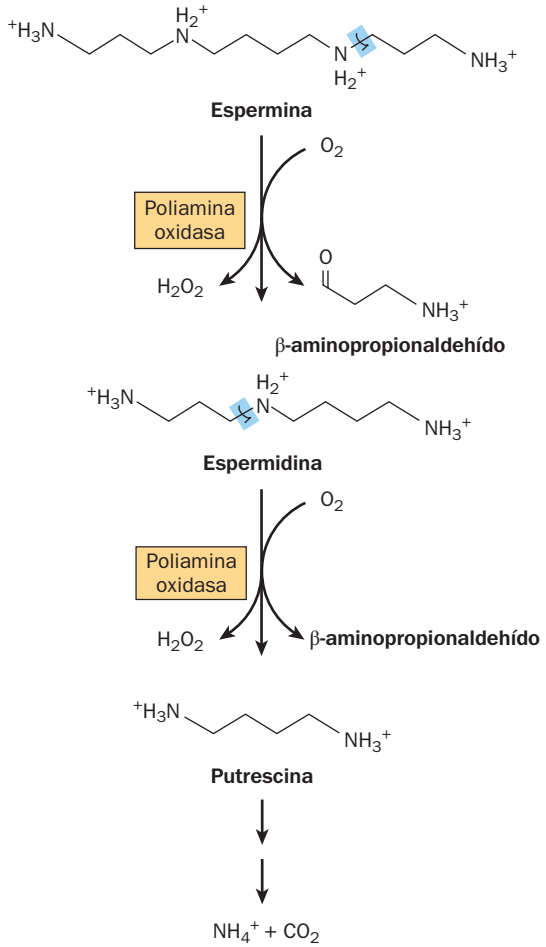


FIGURA 30-9 **Catabolismo de las poliaminas.**

síntesis de las poliaminas a partir de metionina y ornitina, y la **figura 30-9** el catabolismo de las poliaminas.

Serina

La serina participa en la biosíntesis de la esfingosina (véase capítulo 24), y de las purinas y pirimidinas, donde proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas y el grupo metilo de la timina (véase capítulo 33). Los defectos genéticos en la cistationina β-sintasa (EC 4.2.1.22)

$$\text{Serina} + \text{Homocisteína} \rightarrow \text{Cistationina} + H_2O$$

una proteína hem que cataliza la condensación de serina dependiente de piridoxal 5'-fosfato con homocisteína para formar cistationina, da como resultado la **homocistinuria**. Finalmente, la serina (no la cisteína) sirve como precursor de peptidil selenocisteína (véase capítulo 27).

Triptófano

Después de la hidroxilación del triptófano a 5-hidroxitriptófano por la triptófano hidroxilasa hepática (EC 1.14.16.4), la descarboxilación posterior forma serotonina (5-hidroxitriptamina), un potente vasoconstrictor y estimulador de la contracción del músculo liso. El catabolismo de la serotonina se inicia por desaminación a 5-hidroxiindol-3-acetato, una reacción catalizada por monoaminooxidasa (MAO), EC 1.4.3.4 (**figura 30-10**). La estimulación psíquica que sigue a la administración de iproniazida es el resultado de su capacidad para prolongar la acción de la serotonina al inhibir la MAO. En el carcinoide (argentafinoma), las células tumorales producen cantidades excesivas de serotonina. Los metabolitos urinarios de la serotonina en pacientes con carcinoide incluyen *N*-acetilserotonina glucurónido y el conjugado glicina del 5-hidroxiindolacetato. La serotonina y la 5-metoxitriptamina son metabolizadas a los ácidos correspondientes por la monoaminooxidasa. La *N*-acetilación de la serotonina, seguida de su *O*-metilación en el cuerpo pineal, forma melatonina. La melatonina circulante es absorbida por todos los tejidos, incluido el cerebro, pero se metaboliza rápidamente por hidroxilación seguida de conjugación con sulfato o con ácido glucurónico. El tejido del riñón, el tejido hepático y las bacterias fecales convierten el triptófano en triptamina y luego al 3-acetato de indol. Los principales catabolitos urinarios normales del triptófano son el 5-hidroxiindodoacetato y el indol 3-acetato (figura 30-10).

Tirosina

Las células neuronales convierten la tirosina en epinefrina y norepinefrina (**figura 30-11**). Aunque la dopa también es un intermediario en la formación de melanina, diferentes enzimas hidroxilan a la tirosina en melanocitos. La dopa descarboxilasa (EC 4.1.1.28), una enzima dependiente de fosfato de piridoxal, forma dopamina. La hidroxilación posterior, catalizada por dopamina β-oxidasa (EC 1.14.17.1), luego forma norepinefrina. En la médula suprarrenal, la *N*-metiltransferasa de feniletanolamina (EC 2.1.1.28) utiliza *S*-adenosilmetionina para metilar la amina primaria de la norepinefrina, formando epinefrina (figura 30-11). La tirosina también es un precursor de la triyodotironina y la tiroxina (véase capítulo 41).

Fosfoserina, fosfotreonina y fosfotirosina

La fosforilación y desfosforilación de residuos específicos de serilo, treonilo o tirosilo de las proteínas regulan la actividad de ciertas enzimas del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos y de las proteínas que participan en las cascadas de transducción de señales (véase capítulo 42).

Sarcosina (*N*-metilglicina)

La biosíntesis y el catabolismo de la sarcosina (*N*-metilglicina) ocurren en las mitocondrias. La formación de sarcosina a partir de dimetilglicina está catalizada por la flavoproteína dimetilglicina deshidrogenasa EC 1.5.8.4, que requiere pteroilpentaglutamato reducido (TPG, *pteroylpentaglutamate*).

$$\text{Dimetilglicina} + FADH_2 + H_4TPG + H_2O \rightarrow \text{Sarcosina} + \text{N-formyl-TPG}$$

Los rastros de sarcosina también pueden surgir por la metilación de la glicina, una reacción catalizada por la glicina *N*-metiltransferasa, EC 2.1.1.20.

$$\text{Glicina} + \textit{S}\text{-adenosilmetionina} \rightarrow \text{Sarcosina} + \textit{S}\text{-adenosilhomocisteína}$$

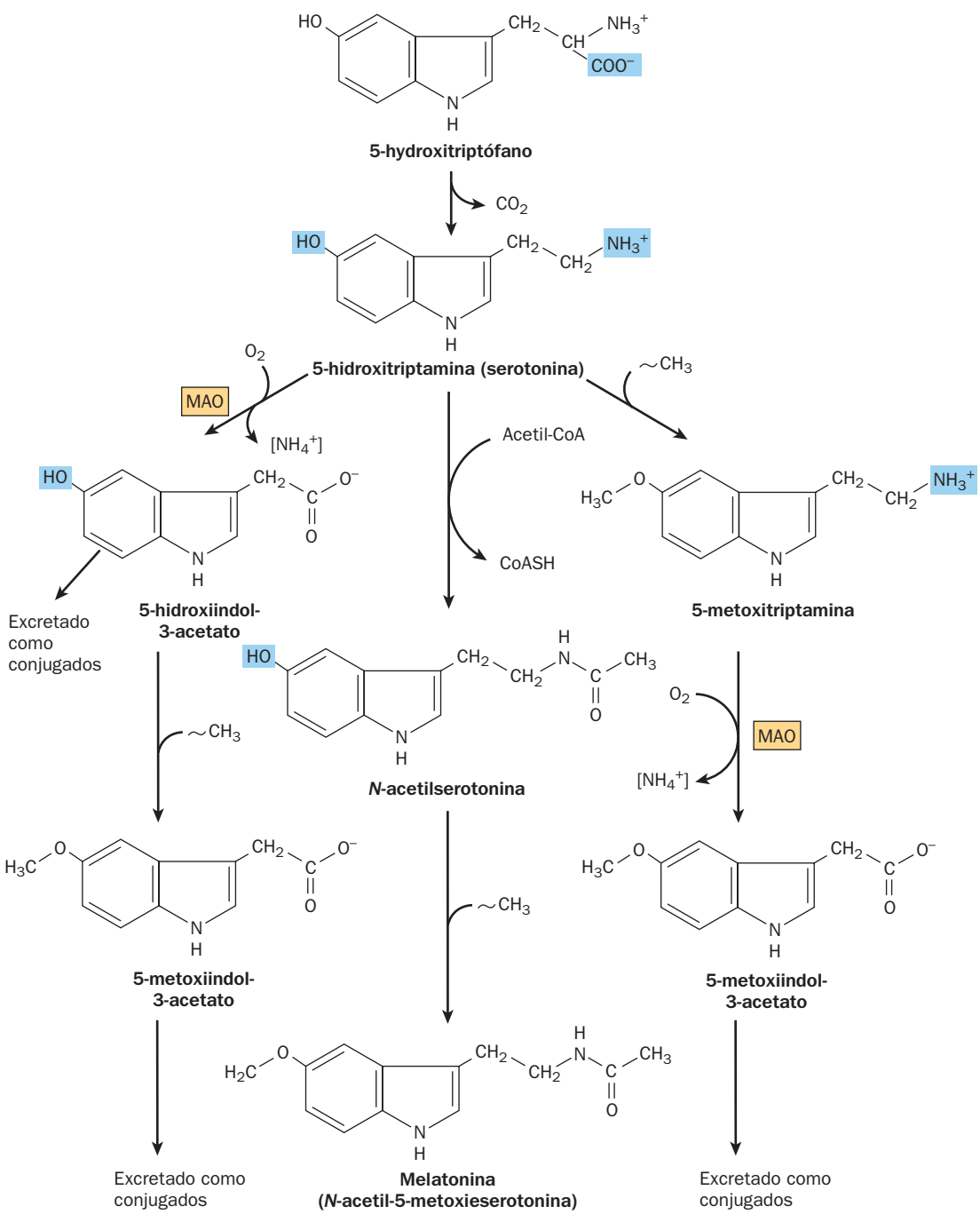


FIGURA 30-10 **Biosíntesis y metabolismo de serotonina y melatonina.** ([NH_4^+], por transaminación; MAO (*monoamine oxidase*): monoamino oxidasa; ~CH_3, de *S*-adenosilmetionina).

El catabolismo de sarcosina a glicina, catalizado por la flavoproteína sarcosina deshidrogenasa EC 1.5.8.3, también requiere pteroilpentaglutamato reducido.

$$\text{Sarcosina} + \text{FAD} + \text{H}_4\text{TPG} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glicina} + \text{FADH}_2 + \text{N-formyl-TPG}$$

Las reacciones de desmetilación que forman y degradan la sarcosina representan importantes fuentes de unidades con un solo carbono. El $FADH_2$ se reoxida a través de la cadena de transporte de electrones (véase capítulo 13).

Creatina y creatinina

La creatinina se forma en el músculo a partir del fosfato de creatina por deshidratación irreversible, no enzimática y pérdida de fosfato (**figura 30-12**). Dado que la excreción urinaria de 24 horas de creatinina es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha recogido una muestra de orina completa de 24 horas. La glicina, la arginina y la metionina participan en la biosíntesis de creatina. La síntesis de creatina se completa mediante metilación de guanidoacetato por la *S*-adenosilmetionina (figura 30-12).

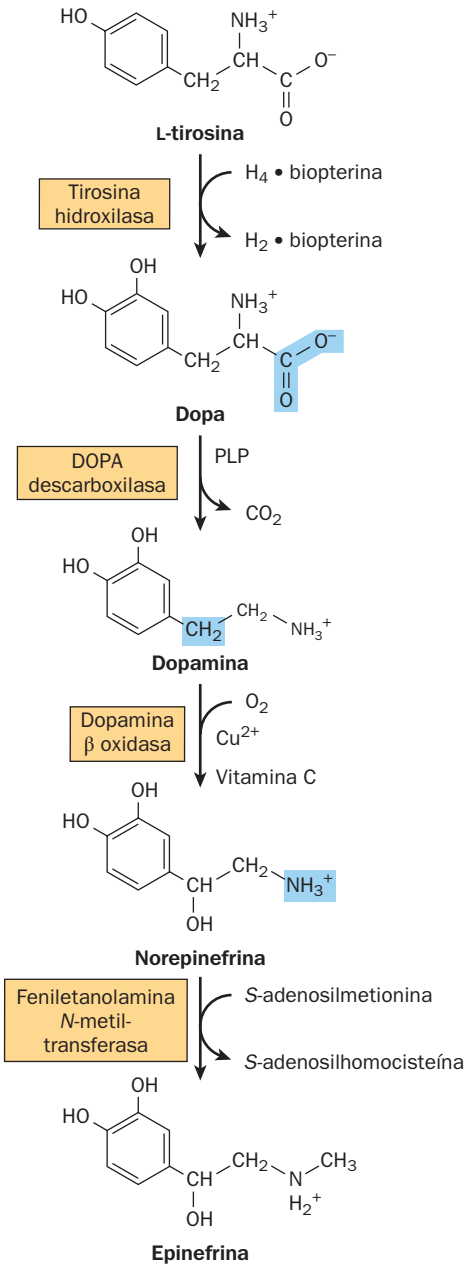


FIGURA 30-11 Conversión de tirosina a epinefrina y norepinefrina en las células neuronales y suprarrenales. PLP, (*pyridoxal phosphate*): fosfato de piridoxal.

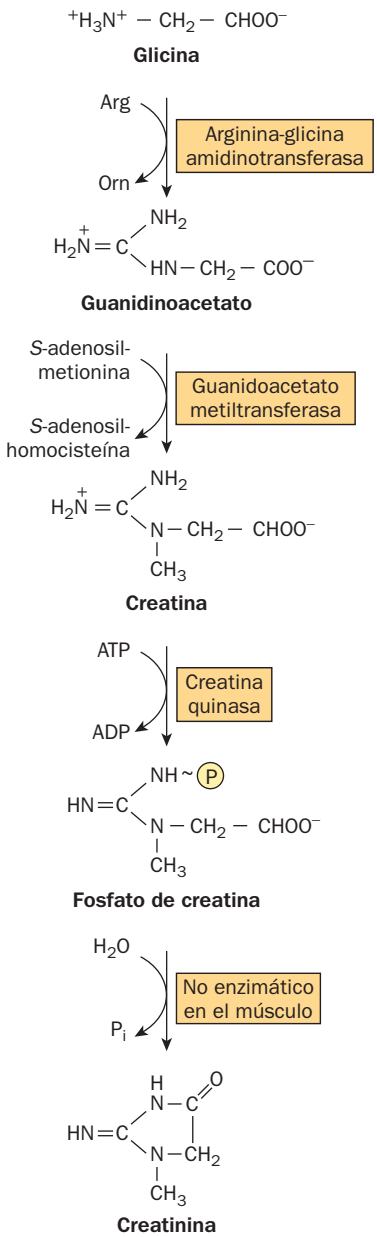


FIGURA 30-12 Biosíntesis de creatina y creatinina. Conversión de glicina y el grupo guanidina de arginina a creatina y fosfato de creatina. También se muestra la hidrólisis no enzimática del fosfato de creatina a creatinina.

AMINOÁCIDOS NO α

Los aminoácidos no α presentes en los tejidos en una forma libre incluyen β-alanina, β-aminoisobutirato y GABA. La β-alanina también está presente en forma combinada en la coenzima A, y en los dipéptidos β-alanilo carnosina, anserina y homocarnosina (véase a continuación).

β-alanina y β-aminoisobutirato

La β-alanina y el β-aminoisobutirato se forman durante el catabolismo de las pirimidinas uracilo y timina, respectivamente (véase figura 33-9). Las trazas de β-alanina también son el resultado de la hidrólisis de los dipéptidos β-alanilo por la enzima carnosinasa, EC 3.4.13.20. El β-aminoisobutirato también se origina por la transaminación del metilmalonato semialdehído, un catabolito de la L-valina (véase figura 29-22).

La reacción inicial del catabolismo de la β-alanina es la transaminación al malonato semialdehído. La transferencia posterior de la coenzima A a partir de succinil-CoA forma malonil-CoA semialdehído, que luego se oxida a malonil-CoA y se descarboxila al intermediario anfibólico acetil-CoA. Las reacciones análogas caracterizan el catabolismo de β-aminoisobutirato. La transaminación forma metilmalonato semialdehído, que se convierte en el intermediario anfibólico succinil-CoA mediante las reacciones 8V y 9V de la figura 29-22. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del

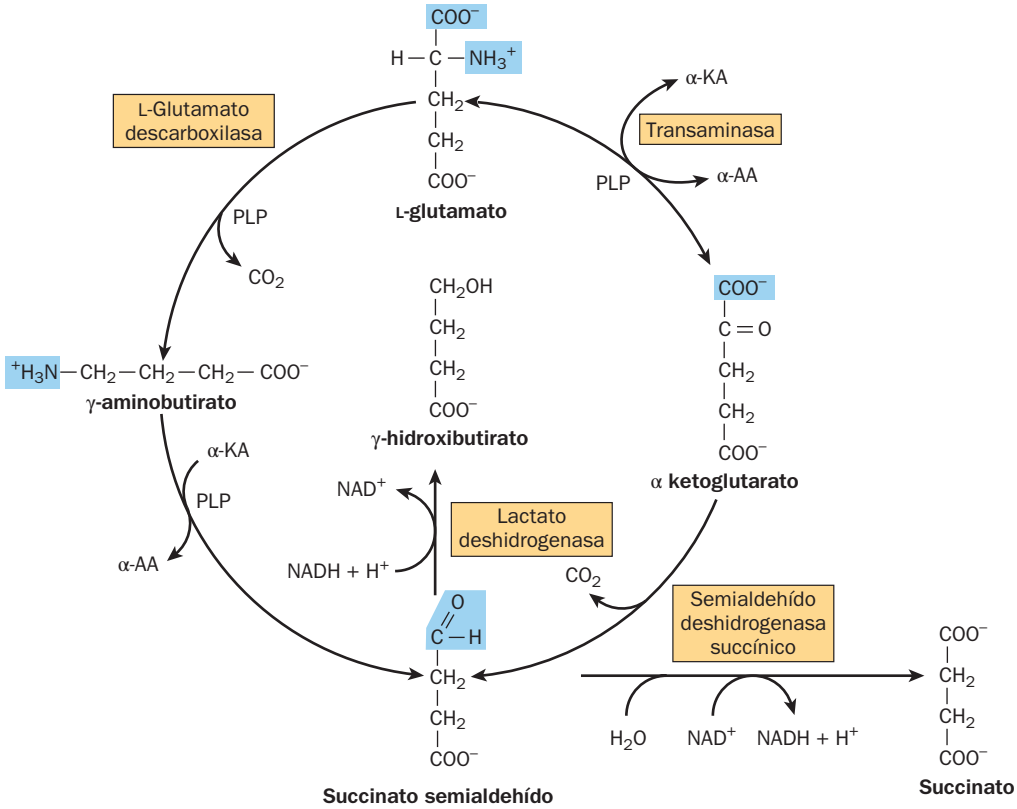


FIGURA 30-13 **Metabolismo de γ-aminobutirato.** (α-AA, α-aminoácidos, α-KA, α-cetoácidos, PLP, fosfato de piridoxal).

β-aminoisobutirato surgen de defectos en las enzimas de la vía catabólica de la pirimidina. Los principales son desórdenes que resultan de una deficiencia total o parcial de dihidropirimidina deshidrogenasa (véase capítulo 33).

β-alanil dipéptidos

Los β-alanil dipéptidos de carnosina y anserina (*N*-metilcarnosina) (figura 30-6) activan la miosina ATPasa (EC 3.6.4.1), producen quelación del cobre y aumentan la absorción del mismo. El β-alanilimidazol tampona el pH de la contracción anaeróbica del músculo esquelético. La biosíntesis de la carnosina es catalizada por la carnosina sintetasa (EC 6.3.2.11) en una reacción en dos etapas que involucra la formación inicial de un acil adenilato unido a la enzima de β-alanina y la posterior transferencia del resto β-alanil a la L-histidina.

$$\text{ATP} + \beta\text{-alanina} \rightarrow \beta\text{-alanil-AMP} + PP_i$$

$$\beta\text{-alanil-AMP} + \text{L-histidina} \rightarrow \text{carnosina} + \text{AMP}$$

La hidrólisis de la carnosina a β-alanina y L-histidina es catalizada por carnosinasa. El trastorno hereditario de carnosinasa deficiencia se caracteriza por **carnosinuria.**

La homocarnosina (figura 30-6, presente en el cerebro humano a niveles más altos que la carnosina) se sintetiza en el tejido cerebral mediante la carnosina sintetasa. La carnosinasa sérica no hidroliza la homocarnosina. La **homocarnosinosis**, un raro trastorno genético, se asocia con paraplejia espástica progresiva y retraso mental.

γ-aminobutirato

El GABA funciona en el tejido cerebral como un neurotransmisor inhibidor al alterar las diferencias de potencial transmembrana. GABA está formado por la descarboxilación del glutamato por L-glutamato descarboxilasa, EC 4.1.1.15 (**figura 30-13**). La transaminación de GABA forma semialdehído de succinato, que se puede reducir a γ-hidroxibutirato por la L-lactato deshidrogenasa, o se puede oxidar a succinato y de allí a través del ciclo de ácido cítrico a CO_2 y H_2O (figura 30-13).Un desorden genético raro del metabolismo de GABA implica un GABA aminotransferasa defectuosa EC 2.6.1.19, una enzima que participa en el catabolismo de GABA después de su liberación postsináptica en el tejido cerebral. Los defectos en la semialdehído deshidrogenasa succínica, EC 1.2.1.24 (figura 30-13) son responsables de la **aciduria 4-hidroxibutirica**, un trastorno metabólico raro del catabolismo GABA caracterizado por la presencia de 4-hidroxibutirato en orina, plasma y líquido cefalorraquídeo (CSF, *cerebrospinal fluid*). Ningún tratamiento actual está disponible para los síntomas neurológicos leves a severos que lo acompañan.

RESUMEN

- Además de cumplir funciones estructurales y funcionales en las proteínas, los α-aminoácidos participan en una amplia variedad de otros procesos biosintéticos.
- La arginina proporciona el grupo formamidina de la creatina y el nitrógeno del NO. A través de la ornitina, la arginina proporcio-

na el esqueleto de las poliaminas putrescina, espermina y espermidina.

- La cisteína proporciona la porción de tioetanolamina de la coenzima A y, después de su conversión a taurina, es parte del ácido biliar del ácido taurocólico.
- La glicina participa en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y *N*-metilglicina (sarcosina). Muchas drogas y metabolitos de drogas se excretan como conjugados de glicina. Esto mejora su solubilidad en agua para la excreción urinaria.
- La descarboxilación de la histidina forma el neurotransmisor histamina. Los compuestos de histidina presentes en el cuerpo humano incluyen ergotioneína, carnosina y anserina.
- La *S*-adenosilmetionina, la principal fuente de grupos metilo en el metabolismo, contribuye con su esqueleto de carbono a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina.
- Además de sus funciones en la biosíntesis de fosfolípidos y esfingosina, la serina proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas y el grupo metilo de la timina.
- Los principales metabolitos de triptófano incluyen la serotonina y la melatonina. El tejido renal y hepático, y también las bacterias fecales, convierten el triptófano a la triptamina y de allí al 3-acetato de indol. Los principales catabolitos de triptófano en la orina son 3-acetato de indol y 5-hidroxiindoleacetato.
- La tirosina forma norepinefrina y epinefrina, y después de la yodación, las hormonas tiroideas triyodotironina y tiroxina.
- La interconversión catalizada por enzimas de las formas fosfo y desfosfo de la serina, treonina y tirosina unidas a péptidos desempeña un papel clave en la regulación metabólica, incluida la transducción de señales.
- La glicina, la arginina y la *S*-adenosilmetionina participan en la biosíntesis de la creatina, que como fosfato de creatina sirve como una importante reserva de energía en el tejido muscular y cerebral. La excreción en la orina de su catabolito creatinina es proporcional a la masa muscular.
- La β-alanina y el β-aminoisobutirato están presentes en los tejidos como aminoácidos libres. La β-alanina también se presenta en forma unida en la coenzima A, la carnosina, la anserina y la homocarnosina. El catabolismo de la β-alanina implica la conversión gradual a acetil-CoA. Las reacciones análogas catabolizan β-aminoisobutirato a succinil-CoA. Los trastornos del metabolismo de β-alanina y β-aminoisobutirato surgen de defectos en las enzimas del catabolismo de pirimidina.
- La descarboxilación del glutamato forma el neurotransmisor inhibitorio GABA. Dos trastornos metabólicos raros se asocian con defectos en el catabolismo de GABA.

REFERENCIAS

Allen GF, Land JM, Heales SJ. A new perspective on the treatment of aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency. *Mol Genet Metab* 2009;97:6.

Caine C, Shohat M, Kim JK, *et al*. A pathogenic S250F missense mutation results in a mouse model of mild aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) deficiency. *Hum Mol Genet* 2017;26:4406.

Cravedi E, Deniau E, Giannitelli M, *et al*. Tourette syndrome and other neurodevelopmental disorders: a comprehensive review. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health* 2017;11:59.

Jansen EE, Vogel KR, Salomons GS, *et al*. Correlation of blood biomarkers with age informs pathomechanisms in succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency (SSADHD), a disorder of GABA metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2016;39:795.

Manegold C, Hoffmann GF, Degen I, *et al*. Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency: clinical features, drug therapy and follow-up. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:371.

Moinard C, Cynober L, de Bandt JP. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clin Nutr* 2005;24:184.

Montioli R, Dindo M, Giorgetti A, *et al*. A comprehensive picture of the mutations associated with aromatic amino acid decarboxylase deficiency: from molecular mechanisms to therapy implications. *Hum Mol Genet* 2014;23:5429.

Pearl PL, Gibson KM, Cortez MA, *et al*. Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: lessons from mice and men. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:343.

Schippers KJ, Nichols SA. Deep, dark secrets of melatonin in animal evolution. *Cell* 2014;159:9.

Wernli C, Finochiaro S, Volken C, *et al*. Targeted screening of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency (SSADHD) employing an enzymatic assay for γ-hydroxybutyric acid (GHB) in biofluids. *Mol Genet Metab Rep* 2016;17:81.

CAPÍTULO

31

Porfirinas y pigmentos biliares

Victor W. Rodwell, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Escribir las fórmulas estructurales de los dos intermediarios anfibólicos cuya condensación inicia la biosíntesis del hem.
- Identificar la enzima que cataliza la enzima regulada clave de la biosíntesis del hem hepático.
- Explicar por qué las porfirinas tienen color mientras que los porfirinógenos no, a pesar de que ambos son tetrapirroles.
- Especificar las ubicaciones intracelulares de las enzimas y metabolitos de la biosíntesis de hem.
- Describir las causas y presentaciones clínicas de varias porfirias.
- Identificar los roles del hem oxigenasa y de la UDP-glucosil transferasa en el catabolismo del hem.
- Definir ictericia, nombrar algunas de sus causas y sugerir cómo determinar su base bioquímica.
- Especificar la base bioquímica de los términos de laboratorio clínico "bilirrubina directa" y "bilirrubina indirecta".

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioquímica de las porfirinas y de los pigmentos biliares están estrechamente relacionadas. El hem se sintetiza a partir de hierro y porfirinas, mientras que los productos de la degradación del hem son los pigmentos biliares y el hierro. La bioquímica de las porfirinas y del hem es básica para comprender las diversas funciones de las hemoproteínas y para comprender las porfirias, un grupo de enfermedades causadas por anomalías en la vía de biosíntesis de las porfirinas. Una condición clínica mucho más común es la ictericia, a consecuencia de un nivel elevado de bilirrubina en el plasma, que ocurre por la sobreproducción de esta o al fracaso de su excreción. La ictericia ocurre en numerosas enfermedades que van desde las anemias hemolíticas a la hepatitis viral y al cáncer de páncreas.

PORFIRINAS

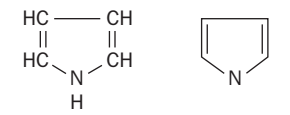
Las **porfirinas** son compuestos cíclicos formados por la unión de cuatro **anillos de pirrol** a través de puentes de metino (=HC–) (**figura 31-1**). Varias **cadenas laterales** pueden reemplazar los ocho átomos de hidrógeno numerados de los anillos de pirrol.

Las porfirinas pueden formar complejos con iones metálicos que establecen enlaces coordinados con el átomo de nitrógeno de cada uno de los cuatro anillos de pirrol. Los ejemplos incluyen **porfirinas de hierro** como el **hem** de la hemoglobina y la **clorofila** de porfirina que contiene magnesio, el pigmento fotosintético de las plantas. Las proteínas hem son omnipresentes en la biología y cumplen diversas funciones, que incluyen, entre otras, el transporte y el almacenamiento de oxígeno (p. ej., hemoglobina y mioglobina) y el transporte de electrones (p. ej., citocromo c y citocromo P450). Los hem son **tetrapirroles**, y los predominantes son hem b y hem c (**figura 31-2**). En el hem c, los grupos vinilo de hem b se reemplazan por enlaces tioéster covalentes a una apoproteína, típicamente a través de residuos de cisteinilo. A diferencia del hem b, el hem c no se disocia fácilmente de su apoproteína.

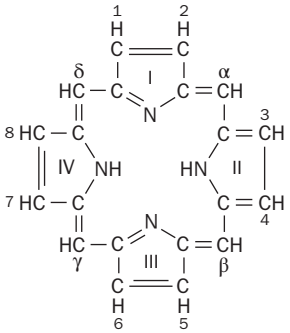
Las proteínas que contienen hem están ampliamente distribuidas en la naturaleza (**cuadro 31-1**). Las proteínas del hem de los vertebrados generalmente se unen a razón de una molécula de hem c por molécula, aunque las de los no vertebrados pueden unir más hem de modo significativo.

EL HEM SE SINTETIZA A PARTIR DE SUCCINIL-COA Y GLICINA

La biosíntesis de hem implica tanto reacciones citosólicas como mitocondriales e intermediarios. La biosíntesis de hem se produce en



Pirrol



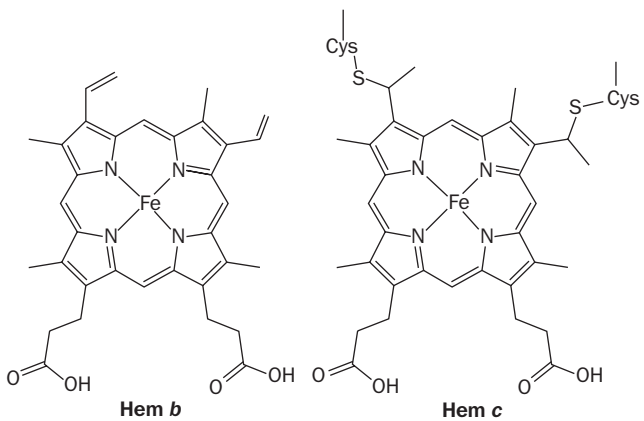
Porfirina
($C_{20}H_{14}N_4$)

FIGURA 31-1 La molécula de porfirina. Los anillos están etiquetados I, II, III y IV. Las posiciones de los sustituyentes están marcadas del 1 al 8. Los cuatro puentes metino (═HC—) están etiquetados α, β, γ y δ.

la mayoría de las células de los mamíferos, excepto en los eritrocitos maduros, que carecen de mitocondrias. Aproximadamente 85% de la síntesis de hem ocurre en las células precursoras eritroides, en la médula ósea, y la mayor parte del otro 15% en los hepatocitos. La biosíntesis de hem se inicia con la condensación de succinil-CoA y glicina en una reacción dependiente de piridoxal fosfato, catalizada por la δ-aminolevulinato sintasa mitocondrial (ALA sintasa, EC 2.3.1.37).

(1) Succinil-CoA + glicina → δ-aminolevulinato + CoA-SH + CO_2

En los seres humanos se expresan dos isozimas de ALA sintasa. La expresión de ALAS1 se halla extendida en todo el cuerpo, mientras que la ALAS2 sólo se expresa en células precursoras de eritrocitos. La formación de δ-aminolevulinato limita la velocidad de la biosíntesis de porfirina en el hígado de los mamíferos (**figura 31-3**).



Hem *b* Hem *c*

FIGURA 31-2 Estructuras del hem *b* y el hem *c*.

CUADRO 31-1 Ejemplos de hemoproteínas importantes[a]

Proteína	Función
Hemoglobina	Transporte de oxígeno en sangre
Mioglobina	Almacenamiento de oxígeno en el músculo
Citocromo *c*	Involucrado en la cadena de transporte de electrones
Citocromo P450	Hidroxilación de xenobióticos
Catalasa	Degradación de peróxido de hidrógeno
Triptófano pirrolasa	Oxidación de triptófano

[a]Las funciones de las proteínas anteriores se describen en varios capítulos de este texto.

Después de la transformación de δ-aminolevulinato en citosol, la reacción catalizada por ALA deshidratasa citosólica (EC 4.2.1.24; porfobilinógeno sintasa) condensa dos moléculas de ALA, formando **porfobilinógeno**:

(2) 2 δ-aminolevulinato → porfobilinógeno + $2H_2O$

(**figura 31-4**). Una metaloproteína de zinc, la ALA deshidratasa, es sensible a la inhibición por plomo, como puede ocurrir en la intoxicación por plomo.

La tercera reacción, catalizada por la **hidroximetilbilano sintasa** citosólica (uroporfirinógeno I sintasa, EC 2.5.1.61) implica la condensación cabeza a cola de cuatro moléculas de porfobilinógeno para formar el tetrapirrol **hidroximetilbilano** *lineal* (**figura 31-5, arriba**):

(3) 4 porfobilinógeno + H_2O → hidroximetilbilano + $4NH_3$

La ciclación posterior de hidroximetilbilano, catalizado por **uroporfirinógeno III sintasa** citosólica, EC 4.2.1.75:

(4) hidroximetilbilano → uroporfirinógeno III + H_2O

da lugar a **uroporfirinógeno** III (figura 31-5, **abajo, a la derecha**). El hidroximetilbilano puede experimentar ciclación espontánea formando **uroporfirinógeno I** (figura 31-5, **abajo, a la izquierda**), pero en condiciones normales, el uroporfirinógeno producido es casi exclusivamente el isómero tipo III. Sin embargo, en ciertas porfirias es característica la formación en exceso de isómeros tipo I de porfirinógenos. Como los anillos de pirrol de estos uroporfirinóge-

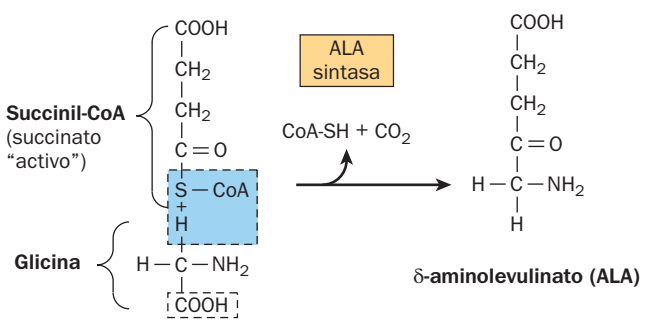


FIGURA 31-3 Síntesis de δ-aminolevulinato (ALA). Esta reacción ***mitocondrial*** es catalizada por la ALA sintasa.

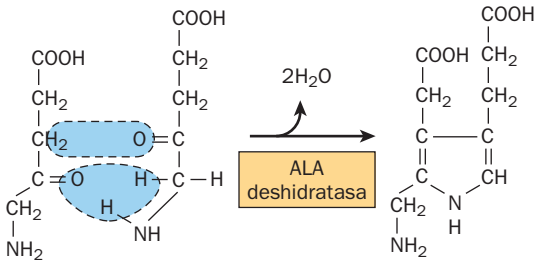


FIGURA 31-4 Formación de porfobilinógeno. La porfobilinógeno sintasa *citosólica* convierte dos moléculas de δ-aminolevulinato en porfirinógeno.

nos están conectados por **metileno** (–CH_2–) en lugar de por puentes de metino (=HC–), los enlaces dobles no forman un sistema conjugado. Por esta razón los porfirinógenos son incoloros. Sin embargo, como se autooxidan fácilmente, pasan a ser porfirinas coloreadas.

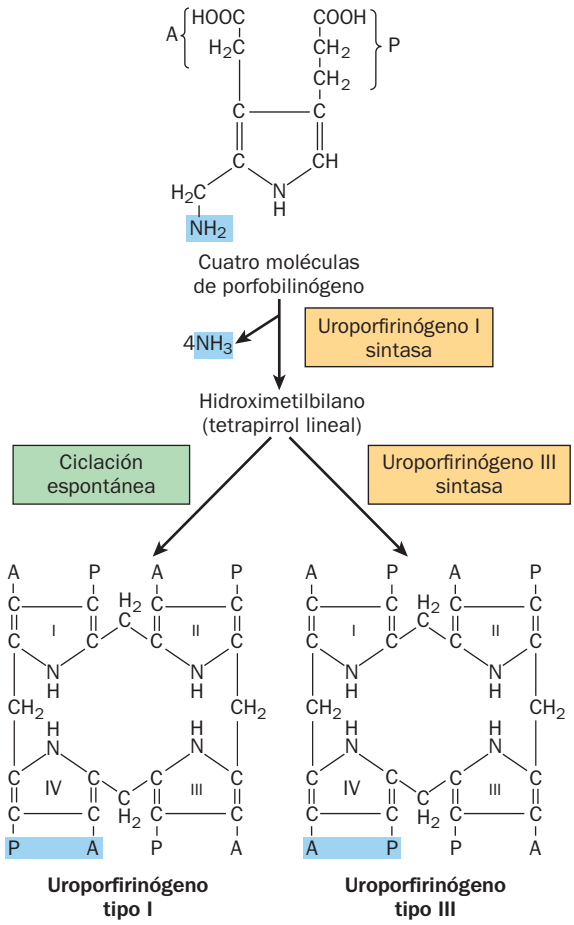


FIGURA 31-5 Síntesis de hidroximetilbilano y su subsiguiente ciclación a porfobilinógeno III. La hidroximetilbilano sintasa *citosólica* (ALA deshidratasa) forma un tetrapirrol lineal, que la uroporfirinógeno sintetasa *citosólica* cicla para formar el uroporfirinógeno III. Obsérvese la asimetría de los sustituyentes en el anillo 4, de modo que los sustituyentes de acetato y propionato resaltados se invierten en los uroporfirinógenos I y III. (A: acetato [—CH_2COO^-]; P: propionato [—$CH_2CH_2COO^-$]).

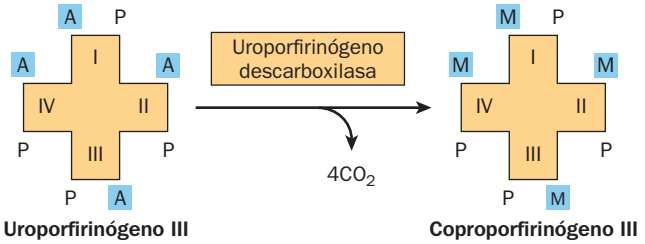


FIGURA 31-6 Descarboxilación de uroporfirinógeno III a coproporfirinógeno III. Se muestra una representación del tetrapirrol para enfatizar la conversión de cuatro grupos acetilo unidos a grupos metilo. (A: acetilo; M: metilo; P: propionilo.)

A continuación, los cuatro restos de acetato de uroporfirinógeno III se someten a la descarboxilación de los sustituyentes metilo (M) y se produce **coproporfirinógeno III** en una reacción citosólica catalizada por **uroporfirinógeno descarboxilasa**, EC 4.1.1.37 (**figura 31-6**):

$$\text{(5) Uroporfirinógeno III} \rightarrow \text{coproporfirinógeno III} + 4CO_2$$

Esta descarboxilasa también puede convertir el uroporfirinógeno I, si está presente, en coproporfirinógeno I.

Las tres reacciones finales de la biosíntesis de hem ocurren en las mitocondrias. El coproporfirinógeno III entra en la mitocondria y se convierte, sucesivamente en **protoporfirinógeno III** y en **protoporfirina III**. Estas reacciones son catalizadas por **coproporfirinógeno oxidasa** (EC 1.3.3.3), que descarboxila y oxida las dos cadenas laterales de ácido propiónico para formar **protoporfirinógeno III**:

$$\text{(6) Coproporfirinógeno III} + O_2 + 2H^+ \rightarrow \text{protoporfirinógeno III} + 2CO_2 + 2H_2O$$

Esta oxidasa es específica para el coproporfirinógeno tipo III, por lo que las protoporfirinas tipo I generalmente no ocurren en los humanos. El protoporfirinógeno III luego se oxida a **protoporfirina III** en una reacción catalizada por **protoporfirinógeno oxidasa**, EC 1.3.3.4:

$$\text{(7) Protoporfirinógeno III} + 3O_2 \rightarrow \text{protoporfirina III} + 3H_2O_2$$

El octavo y último paso en la síntesis de hem implica la incorporación de hierro ferroso a la protoporfirina III en una reacción catalizada por **ferroquelatasa** (hem sintasa, EC 4.99.1.1), (**figura 31-7**):

$$\text{(8) Protoporfirina III} + Fe^2 \rightarrow \text{hem} + 2H^+$$

La **figura 31-8** resume las etapas de la biosíntesis de los derivados de la porfirina a partir de porfobilinógeno. Para las reacciones anteriores, los números se corresponden con los de la figura 31-8 y la **cuadro 31-2**.

La ALA sintasa es la enzima reguladora clave en la biosíntesis hepática de hem

A diferencia de la ALAS2, que se expresa exclusivamente en las células precursoras de los eritrocitos, la ALAS1 se expresa en los

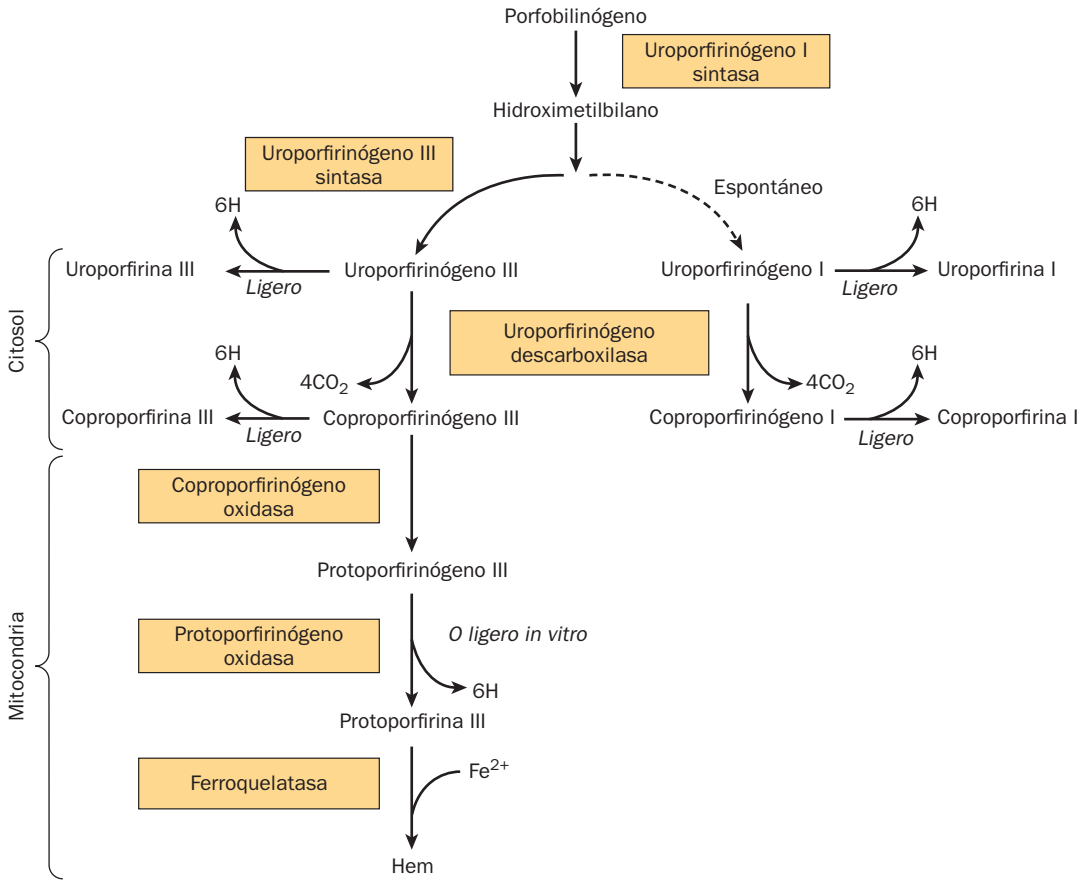


FIGURA 31-7 **Biosíntesis de los derivados de porfirina indicados a partir del porfobilinógeno.**

tejidos corporales. La reacción catalizada por la ALA sintasa 1 (figura 31-3) limita la velocidad de la biosíntesis de hem en el hígado. A pesar de ser una enzima que cataliza una reacción que limita la velocidad, es característico de la ALAS1 tener una vida media corta. El **hem** actúa como un regulador negativo de la síntesis de ALAS1 (figura 31-8), probablemente a través de una molécula de aporrepresor. Por tanto, si en ausencia de hem aumenta notablemente la síntesis de ALAS1, en presencia de hem ocurre lo contrario. El hem también afecta la traducción de ALAS1 y su translocación de su sitio citosólico de síntesis a la mitocondria. Muchos medicamentos cuyo metabolismo requiere la hemoproteína citocromo P450 aumentan la biosíntesis de esta hemoproteína. El agotamiento resultante del conjunto de hem intracelular induce la síntesis de ALAS1, y el aumento de la velocidad de síntesis de hem para satisfacer la demanda metabólica. Por el contrario, dado que la ALAS2 no está regulada por la retroalimentación del hem, su biosíntesis no es inducida por estos fármacos.

LAS PORFIRINAS TIENEN COLOR Y FLUORESCEN

Mientras que los porfirinógenos son incoloros, las diversas porfirinas tienen color. Los dobles enlaces conjugados en los anillos de pirrol y los grupos metileno de unión de las porfirinas (ausentes en los porfirinógenos) son responsables de sus espectros de absorción y fluorescencia. Los espectros visibles y ultravioleta de las porfirinas y los derivados de las porfirinas son útiles para su identificación (**figura 31-9**). La banda de absorción aguda cercana a los 400 nm es una característica distintiva compartida por todas las porfirinas; también se conoce como banda de Soret, en honor a su descubridor, el físico francés Charles Soret.

Las porfirinas disueltas en ácidos minerales fuertes o en solventes orgánicos, e iluminadas por luz ultravioleta emiten una fuerte fluorescencia roja, una propiedad que se usa a menudo para detectar pequeñas cantidades de porfirinas libres. Las propiedades fotodinámicas de las porfirinas han sugerido su posible uso en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, un procedimiento llamado fototerapia contra el cáncer. Dado que los tumores absorben se administra hematoporfirina o algún compuesto relacionado a un paciente con un tumor tratable por esta vía y luego se expone el tumor a un láser de argón para excitar las porfirinas y así inducir efectos citotóxicos.

La espectrofotometría se usa para detectar a las porfirinas y sus precursores

Las coproporfirinas y las uroporfirinas se excretan en cantidades crecientes en las porfirias. Cuando están presentes en la orina o las heces, pueden separarse mediante extracción con solventes apropiados, y luego identificarse y cuantificarse usando métodos espectrofotométricos.

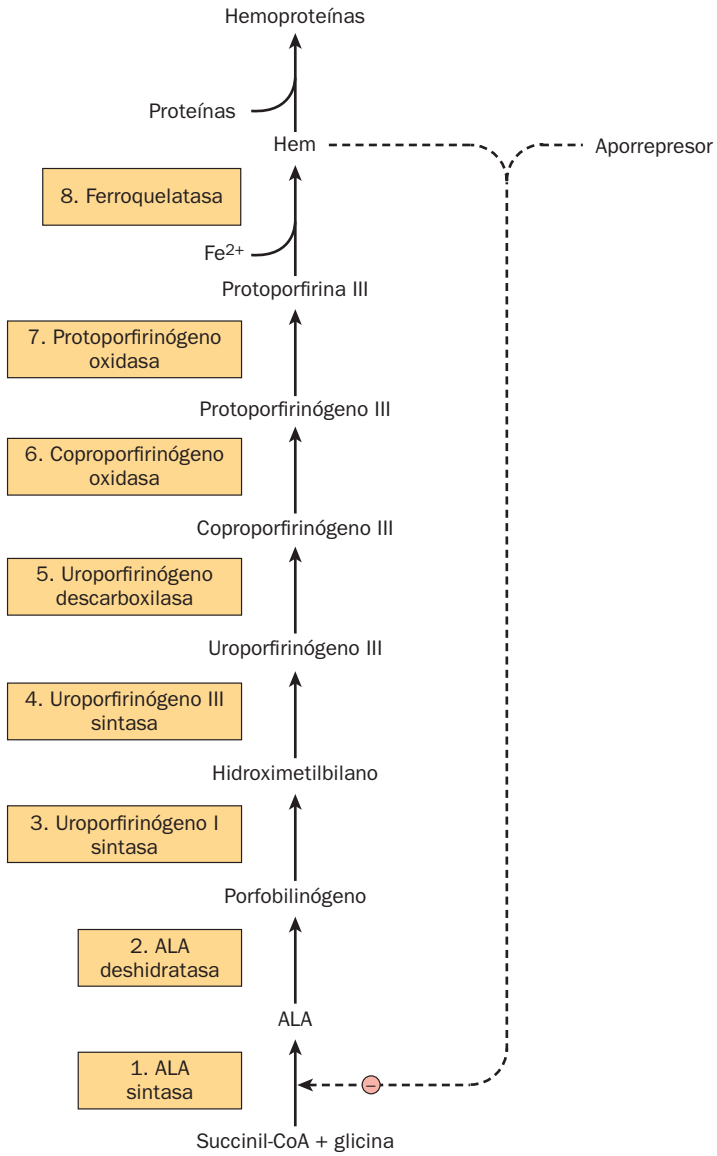


FIGURA 31-8 **Intermediarios, enzimas y regulación de la síntesis del hem.** Los números de las enzimas que catalizan las reacciones indicadas son las utilizadas en el texto adjunto y en la columna 1 de la **cuadro 31-2**. Las enzimas 1, 6, 7 y 8 son *mitocondriales*, pero las enzimas de la 2 a la 5 son *citosólicas*. La regulación de la síntesis de hem hepático se produce en la ALA sintasa (ALAS1) mediante un mecanismo de represión-desrepresión mediado por el hem y un hipotético aporrepresor (no mostrado). Las mutaciones en el gen que codifica la enzima 1 causan anemia sideroblástica ligada a X. Las mutaciones en los genes que codifican las enzimas de la 2 a la 8 dan lugar a las porfirias.

TRASTORNOS DE LA BIOSÍNTESIS DEL HEM

Los trastornos de la biosíntesis del hem pueden ser genéticos o adquiridos. Un ejemplo de defecto adquirido es el envenenamiento por plomo. El plomo puede inactivar a la ferroquelatasa y a la ALA deshidratasa al combinarse con grupos tioles esenciales. Los signos incluyen niveles elevados de protoporfirina en los eritrocitos y niveles elevados de ALA y coproporfirina en la orina.

Los trastornos genéticos del metabolismo de hem y del metabolismo de bilirrubina (véase a continuación) comparten las siguientes características con los trastornos metabólicos de la biosíntesis de la urea (véase el capítulo 28):

1. Pueden aparecer signos y síntomas clínicos similares o idénticos a partir de diferentes mutaciones en los genes que codifican enzimas determinadas o enzimas que catalizan reacciones sucesivas.
2. La terapia racional requiere una comprensión de la bioquímica de las reacciones catalizadas por enzimas tanto en individuos normales como en personas con discapacidad.
3. La identificación de los productos intermedios y secundarios que se acumulan antes de un bloqueo metabólico puede pro-

CUADRO 31-2 Resumen de los principales hallazgos asociados a las porfirias[a]

Enzima involucrada[b]	Tipo, clase y número OMIM	Principales signos y síntomas	Resultados de las pruebas de laboratorio
1. ALA sintasa 2 (ALAS2), CE 2.3.1.37	Anemia sideroblástica ligada a X[c] (eritropoyético) (OMIM 301300)	Anemia	Recuento de glóbulos rojos y hemoglobina disminuida
2. ALA deshidratasa EC 4.2.1.24	Deficiencia de ALA deshidratasa (hepática) (OMIM 125270)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA urinaria y coproporfirina III aumentadas
3. Uroporfirinógeno I sintasa[d] EC 2.5.1.61	Porfiria intermitente aguda (hepática) (OMIM 176000)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	Aumento de ALA y PBG[e] urinarias
4. Uroporfirinógeno III sintasa EC 4.2.1.75	Eritropoyético congénito (eritropoyético) (OMIM 263700)	Fotosensibilidad	Niveles aumentados de uroporfirina I en la orina, las heces y las células rojas
5. Uroporfirinógeno descarboxilasa EC 4.1.1.37	Porfiria cutánea tarda (hepática) (OMIM 176100)	Fotosensibilidad	Uroporfirina urinaria I aumentada
6. Coproporfirinógeno oxidasa EC 1.3.3.3	Coproporfiria hereditaria (hepática) (OMIM 121300)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	Aumento de ALA, PBG, y coproporfirina III fecal y urinaria
7. Protoporfirinógeno oxidasa EC 1.3.3.4	Porfiria variegata (hepática) (OMIM 176200)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	El ALA, PBG y coproporfirina III urinaria y la protoporfirina fecal IX aumentadas
8. Ferroquelatasa EC 4.99.1.1	Protoporfiria (eritropoyética) (OMIM 177000)	Fotosensibilidad	Protoporfirina IX fecal y glóbulos rojos aumentados

[a] Sólo se enumeran los hallazgos bioquímicos en las etapas activas de estas enfermedades. Ciertas anormalidades bioquímicas son detectables en las etapas latentes de algunas de las condiciones anteriores. Las condiciones 3, 5 y 8 son generalmente las porfirias más prevalentes. La condición 2 es rara.
[b] La numeración de las enzimas en este cuadro se corresponde con la utilizada en la figura 31-8.
[c] La anemia sideroblástica asociada a X no es una porfiria, pero se incluye aquí porque está involucrada a la ALA sintasa.
[d] Esta enzima es llamada también PBG desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.
[e] PBG: porfirrobilinógeno III.
Abreviaturas: ALA: ácido δ-aminolevulínico; PBG: porfobilinógeno.

porcionar la base para las pruebas de detección metabólica, que pueden implicar la reacción alterada.

4. El diagnóstico definitivo implica un análisis cuantitativo de la actividad de la(s) enzima(s) que se sospecha son defectuosas. A esto podría agregarse la consideración de factores aún no identificados por completo que facilitan la translocación de enzimas e intermediarios entre los compartimientos celulares.

5. La comparación de la secuencia de DNA del gen que codifica una enzima mutante dada con la secuencia del gen de tipo salvaje puede identificar la(s) mutación(es) específica(s) que causan la enfermedad.

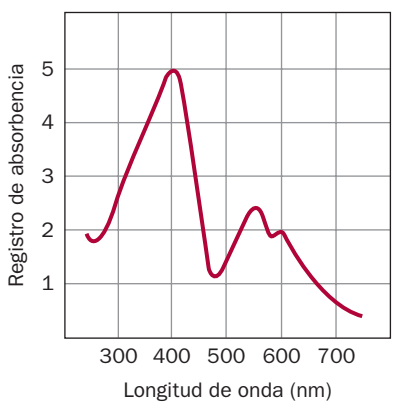


FIGURA 31-9 Espectro de absorción de hematoporfirina. El espectro es de una solución diluida (0.01%) de hematoporfirina en HCl a 5%.

Las porfirias

Los signos y síntomas de una porfiria son el resultado de una deficiencia de productos intermedios más allá del bloqueo enzimático o de la **acumulación** de metabolitos antes del bloqueo. El cuadro 31-2 enumera seis tipos principales de **porfiria** que reflejan una actividad baja o ausente de las enzimas que catalizan las reacciones de la 2 a la 8 de la figura 31-8. Posiblemente debido a su potencial letalidad, no hay un defecto conocido de ALAS1. Las personas con baja actividad de ALAS2 desarrollan anemia, no porfiria (cuadro 31-2). La porfiria que es consecuencia de la baja actividad de la ALA deshidratasa, denominada porfiria deficiente en ALA deshidratada, es extremadamente rara.

Porfiria eritropoyética congénita

Si bien la mayoría de las porfirias se heredan **de manera autosómica dominante**, la porfiria eritropoyética congénita se hereda **en modo recesivo**. La enzima defectuosa en la porfiria eritropoyética congénita es la **uroporfirinógeno III sintasa** (figura 31-5, abajo). La fotosensibilidad y la desfiguración severa exhibida por algunos pacientes de porfiria eritropoyética congénita los ha sugerido como prototipos de los llamados hombres lobo.

Porfiria intermitente aguda

La enzima defectuosa en la porfiria intermitente aguda es la hidroximetilbilano sintasa (figura 31-5, abajo). El ALA y el porfobilinógeno se acumulan en los tejidos y fluidos corporales (**figura 31-10**).

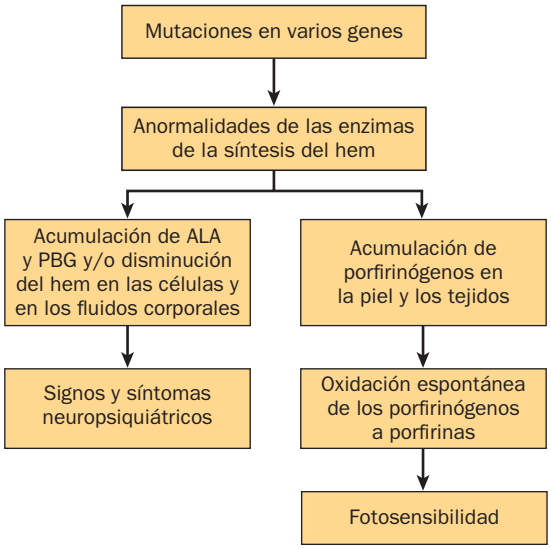


FIGURA 31-10 **Base bioquímica de los principales signos y síntomas de las porfirias.**

Bloqueos metabólicos subsiguientes

Los bloqueos posteriores en la vía dan como resultado la **acumulación de los porfirinógenos** indicados en las figuras 31-8 y 31-10. Los productos de su oxidación, los correspondientes derivados de la porfirina, causan fotosensibilidad a la luz visible de aproximadamente 400 nm de longitud de onda. Posiblemente como resultado de su excitación y reacción con el oxígeno molecular, los radicales de oxígeno resultantes dañan los lisosomas y otros organelos subcelulares, liberando enzimas proteolíticas que causan grados variables de daño a la piel, incluyendo cicatrices.

LA CLASIFICACIÓN DE LAS PORFIRIAS

Las porfirias pueden denominarse **eritropoyéticas** o **hepáticas** en función de los órganos más afectados, generalmente la médula ósea y el hígado (cuadro 31-2). Los niveles diferentes y variables de hem, precursores tóxicos o metabolitos, probablemente explican por qué las porfirias específicas afectan diferencialmente a algunos tipos de células y órganos. Alternativamente, las porfirias pueden clasificarse como **agudas** o **cutáneas** en función de sus características clínicas. El diagnóstico de un tipo específico de porfiria implica considerar tanto la historia clínica y familiar, como el examen físico y las pruebas de laboratorio apropiadas. El cuadro 31-2 enumera los principales signos, síntomas y hallazgos de laboratorio relevantes en los seis tipos principales de porfiria.

Porfiria inducida por medicamentos

Ciertos medicamentos (p. ej., los barbitúricos, la griseofulvina) inducen la producción de citocromo P450. En pacientes con porfiria, esto puede precipitar una crisis al reducir los niveles de hem. La desrepresión compensadora de la síntesis de ALAS1 da como resultado niveles elevados de precursores de hem potencialmente dañinos.

Posibles tratamientos para las porfirias

El tratamiento actual de las porfirias es esencialmente sintomático: incluye evitar los medicamentos que inducen la producción de citocromo P450 y la ingestión de grandes cantidades de carbohidratos, así como administrar hematina para reprimir la síntesis de ALAS1 y de este modo disminuir la producción de precursores de hem dañinos. Los pacientes que exhiben fotosensibilidad se benefician de los filtros solares y posiblemente de la administración de β-caroteno, lo que parece disminuir la producción de radicales libres y la fotosensibilidad.

EL CATABOLISMO DEL HEM PRODUCE BILIRRUBINA

En los humanos adultos normalmente se destruyen por día cerca de 200 mil millones de eritrocitos. Por tanto, en un humano de 70 kg se transforman al día aproximadamente **6 g de hemoglobina**. Todos los productos son reutilizados. La **globina** se degrada a sus aminoácidos constituyentes y el hierro liberado ingresa a las reservas de hierro del organismo. La parte de **porfirina** libre de hierro del hem también se degrada, principalmente en las células reticuloendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea.

El catabolismo del hem de todas las proteínas del grupo hem tiene lugar en la **fracción microsomal** de las células mediante la **hemooxigenasa**, EC 1.14.18.18. La síntesis de hem oxigenasa es inducible por sustrato, y el hem también sirve como sustrato y como cofactor para la reacción. El hierro del hem que llega a hemooxigenasa generalmente se ha oxidado a su **forma férrica** (**hemina**). La conversión de una molecula de hem-Fe^{3+} a biliverdina, monóxido de carbono y Fe^{3+} consume tres moléculas de O_2, más siete electrones proporcionados por NADH y NADPH-citocromo P450 reductasa:

$$Fe^{3+}\text{-hem} + 3O_2 + 7e^- \rightarrow \text{biliverdina} + CO + Fe^{3+}$$

A pesar de su alta afinidad por el hem-Fe^{2+} (véase el capítulo 6), el monóxido de carbono producido no inhibe severamente la hemoxigenasa. Las aves y los anfibios excretan directamente de color verde la biliverdina. Sin embargo, en los seres humanos, la **biliverdina reductasa** (EC 1.3.1.24) reduce el puente central de metileno de la biliverdina a un grupo metilo, produciendo la **bilirrubina** de pigmento amarillo (**figura 31-11**):

$$\text{Biliverdina} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow \text{bilirrubina} + NADP^+$$

Dado que 1 g de hemoglobina rinde para aproximadamente 35 mg de bilirrubina, **los humanos adultos forman de 250 a 350 mg de bilirrubina por día**. Esto se deriva principalmente de la hemoglobina y también de la eritropoyesis ineficaz y del catabolismo de otras proteínas hem.

La conversión del hem en bilirrubina por las células reticuloendoteliales puede observarse a simple vista cuando el color púrpura del hem de un **hematoma** se convierte lentamente en el pigmento amarillo de la bilirrubina.

La bilirrubina se transporta al hígado unida a la albúmina sérica

A diferencia de la bilirrubina, que es escasamente soluble en agua, la bilirrubina unida a la albúmina sérica se transporta fácilmente al hígado. La albúmina parece tener sitios de alta afinidad y baja afi-

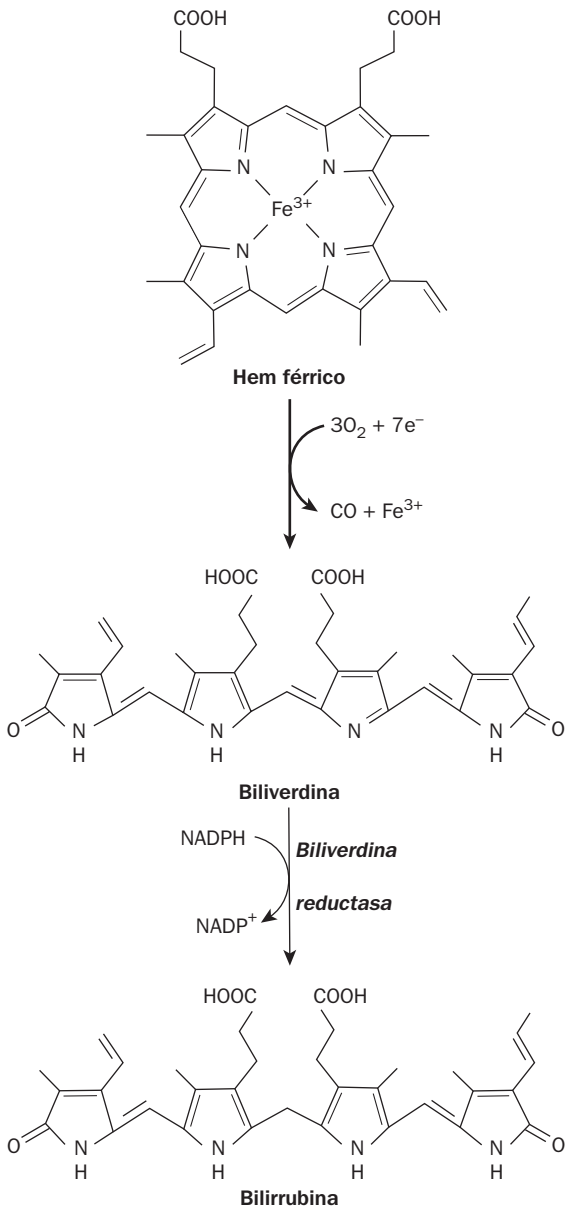


FIGURA 31-11 Conversión sucesiva de hem férrico primero a beliverdina y luego a bilirrubina. 1) La conversión del hem férrico a biliverdina es catalizada por el sistema hem oxigenasa. 2) Posteriormente, la biliverdina reductasa reduce la biliverdina a bilirrubina.

nidad para la bilirrubina. El sitio de alta afinidad puede unir aproximadamente 25 mg de bilirrubina en 100 mL de plasma. La bilirrubina más débilmente ligada puede separarse fácilmente y difundirse en los tejidos, y los antibióticos y ciertos otros fármacos pueden competir con la bilirrubina del sitio de alta afinidad de la albúmina y desplazarla.

El metabolismo adicional de la bilirrubina ocurre principalmente en el hígado

El catabolismo hepático de la bilirrubina tiene lugar en tres etapas: absorción por el hígado, conjugación con el ácido glucurónico y secreción en la bilis.

La absorción de bilirrubina por las células del parénquima hepático

La bilirrubina se elimina de la albúmina y se absorbe en la superficie sinusoidal de los hepatocitos mediante **un sistema de transporte facilitado**, saturable y de gran capacidad. Incluso en condiciones patológicas, el transporte no parece limitar la velocidad de metabolismo de la bilirrubina. La absorción neta de bilirrubina depende de su **eliminación** por el metabolismo posterior. Una vez internalizada, la bilirrubina se une a proteínas citosólicas como la glutatión *S*-transferasa, antes conocida como **ligandina**, para evitar que la bilirrubina vuelva a entrar en el torrente sanguíneo.

Conjugación de bilirrubina con glucuronato

La bilirrubina es **no polar** y persistiría en las células (p. ej., unida a lípidos) si no se convirtiese a una forma más soluble en agua. La bilirrubina se convierte en una molécula más **polar** por su conjugación con el ácido glucurónico (**figura 31-12**). Una **UDP-glucuronosiltransferasa** específica de bilirrubina (EC 2.4.1.17) del retículo endoplasmático cataliza la transferencia por etapas de dos restos glucosilo del UDP-glucuronato a la bilirrubina:

$$\text{Bilirrubina} + \text{UDP-glucuronato} \rightarrow \text{bilirrubina monoglucuronida} + \text{UDP}$$

$$\text{Monoglucurónido de bilirrubina} + \text{UDP-glucuronato} \rightarrow \text{diglucurónido de bilirrubina} + \text{UDP}$$

Secreción de bilirrubina en la bilis

La secreción de bilirrubina conjugada en la bilis se produce por un mecanismo de transporte activo, que probablemente limita la velocidad de todo el proceso del metabolismo de la bilirrubina hepática. La proteína involucrada es **un transportador de aniones orgánicos multiespecíficos (MOAT, *a multiespecific organic anion transporter*)** ubicado en la membrana plasmática de los canalículos biliares. Un miembro de la familia de transportadores de casetes de unión al ATP, MOAT transporta una cantidad de aniones orgánicos. El transporte hepático de bilirrubina conjugada a la bilis es **inducible** por los mismos fármacos que pueden inducir la conjugación de la bilirrubina. La conjugación y la excreción de la bilirrubina constituyen así una unidad funcional coordinada.

La mayor parte de la bilirrubina excretada en la bilis de los mamíferos es diglucurónido de bilirrubina. La actividad de la UDP-glucuronosiltransferasa de la bilirrubina puede ser **inducida** por varios fármacos, incluido el fenobarbital. Sin embargo, cuando los conju-

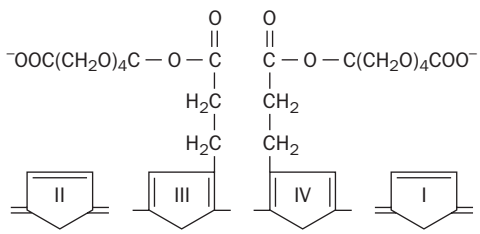


FIGURA 31-12 Diglucurónido de bilirrubina. Los restos de glucuronato se unen mediante enlaces éster a los dos grupos de propionato de bilirrubina. Clínicamente, el diglucurónido también se denomina bilirrubina de "reacción directa".

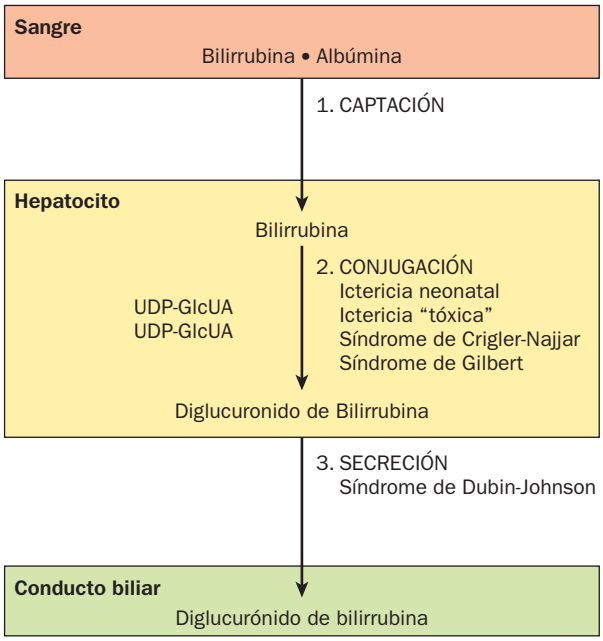


FIGURA 31-13 Representación esquemática de los tres procesos principales (captación, conjugación y secreción) implicados en la transferencia de bilirrubina de la sangre a la bilis. Ciertas proteínas de los hepatocitos se unen a la bilirrubina intracelular y pueden evitar su salida al torrente sanguíneo. También se muestran los procesos afectados en ciertas condiciones que causan ictericia.

gados de bilirrubina existen anormalmente en el plasma humano (p. ej., en la ictericia obstructiva), son predominantemente **monoglucurónidos**. La **figura 31-13** resume los tres principales procesos implicados en la transferencia de bilirrubina de la sangre a la bilis. También están indicados los sitios que se ven afectados en una serie de condiciones que causan ictericia.

Las bacterias intestinales reducen la bilirrubina conjugada a urobilinógeno

Cuando la bilirrubina conjugada alcanza el íleon terminal y el intestino grueso, las fracciones de glucuronosilo se eliminan mediante β-glucuronidasas bacterianas específicas (EC 3.2.1.31). La reducción subsiguiente por la microbiota fecal forma un grupo de tetrapirroles incoloros llamados **urobilinógenos**. Pequeñas porciones de urobilinógenos son reabsorbidas en el íleon terminal y el intestino grueso y, posteriormente, reexcretadas a través del ciclo del **urobilinógeno enterohepático**. En condiciones anormales, particularmente cuando se forma un exceso de pigmento biliar o cuando la enfermedad hepática interrumpe este ciclo intrahepático, el urobilinógeno también puede excretarse en la orina. La mayoría de los urobilinógenos incoloros formados en el colon se **oxidan** en **urobilinas** coloreadas y se excretan en las heces. El oscurecimiento fecal por (tras) exposición al aire es resultado de la oxidación de urobilinógenos residuales a urobilinas.

La medición de bilirrubina en el suero

Para la cuantificación de la bilirrubina se emplea un método colorimétrico basado en el color rojo-púrpura que se forma cuando la bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotizado. Una prueba realizada en ausencia de metanol agregado mide la "**bilirrubina directa**", que es **glucurónido de bilirrubina**. Un análisis realizado en *presencia* de metanol agregado mide la **bilirrubina total**. La *diferencia* entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa se conoce como "**bilirrubina indirecta**" y es **bilirrubina no conjugada**.

LA HIPERBILIRRUBINEMIA CAUSA LA ICTERICIA

La **hiperbilirrubinemia**, la condición caracterizada por niveles de bilirrubina en sangre por encima de 1 mg por dL (17 μmol/L), puede ser resultado, o bien de una producción de bilirrubina que excede en cantidad a la que puede excretar un hígado normal, o bien de la imposibilidad de un hígado dañado de excretar cantidades normales de **bilirrubina**. En ausencia de daño hepático, la **obstrucción** de los conductos excretores del hígado evita la excreción de la bilirrubina y también causa hiperbilirrubinemia. En todas estas situaciones, cuando la concentración de bilirrubina en sangre alcanza de 2 a 2.5 mg/dL, se difunde en los tejidos que se vuelven amarillos y produce una afección llamada **ictericia** o **icteros**.

Presencia en sangre de bilirrubina no conjugada

Las formas de hiperbilirrubinemia incluyen **hiperbilirrubinemia de retención** debido a la sobreproducción de bilirrubina e **hiperbilirrubinemia por regurgitación** debido al reflujo de bilirrubina al torrente sanguíneo por obstrucción biliar.

Debido a su **hidrofobicidad**, sólo la bilirrubina *no conjugada* puede cruzar la barrera hematoencefálica hacia el sistema nervioso central. La encefalopatía por hiperbilirrubinemia (kernicterus), al igual que la hiperbilirrubinemia de retención, sólo es producida por bilirrubina no conjugada. En consecuencia, la **ictericia colúrica** (la coluria es la presencia de pigmentos biliares en la orina) ocurre sólo en la hiperbilirrubinemia regurgitante, y la **ictericia acolúrica** ocurre sólo en presencia de un exceso de bilirrubina no conjugada. El **cuadro 31-3** enumera algunas causas de hiperbilirrubinemia conjugada y no conjugada. Una hiperbilirrubinemia moderada

CUADRO 31-3 Algunas causas de hiperbilirrubinemia conjugada y no conjugada

No conjugada	Conjugada
Anemias hemolíticas	Obstrucción del árbol biliar
Neonatal "ictericia fisiológica"	Síndrome de Dubin-Johnson
Síndromes de Crigler-Najjar tipos I y II	Síndrome de Rotor
Síndrome de Gilbert	Enfermedades hepáticas como los diversos tipos de hepatitis
Hiperbilirrubinemia tóxica	

Estas causas se discuten brevemente en el texto. Las causas comunes de obstrucción del árbol biliar son litiasis en el conducto biliar común y cáncer de la cabeza del páncreas. Las causas más frecuentes de hiperbilirrubinemia conjugada son las diversas enfermedades hepáticas (p. ej., los diversos tipos de hepatitis).

acompaña a las anemias hemolíticas. A pesar de una hemólisis extensa y debido a la gran capacidad de un hígado sano de metabolizar bilirrubina, en estos casos la hiperbilirrubinemia suele ser modesta (<4 mg de bilirrubina por dL: <68 µmol/L).

TRASTORNOS DEL METABOLISMO DE LA BILIRRUBINA

"Ictericia fisiológica" neonatal

La hiperbilirrubinemia no conjugada de la "ictericia fisiológica" neonatal es el resultado de una hemólisis acelerada y un sistema hepático inmaduro para la captación, conjugación y secreción de bilirrubina. En esta condición transitoria, la actividad de la bilirrubina glucuronosiltransferasa, y probablemente también la síntesis de UDP-glucuronato, se reducen. La bilirrubina puede penetrar la barrera hematoencefálica cuando la concentración plasmática de bilirrubina no conjugada excede en cantidad a la que puede unirse estrechamente con albúmina (20-25 mg/dL). Si no es tratada, la **encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica** resultante o **kernicterus** puede provocar retraso mental. La exposición de los recién nacidos con ictericia a luz azul (fototerapia) promueve la excreción hepática de bilirrubina no conjugada convirtiendo algunos en derivados que se excretan en la bilis. En estos casos también puede administrarse fenobarbital, un promotor del metabolismo de la bilirrubina.

Defectos de la bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa

Las glucuronosiltransferasas (EC 2.4.1.17), una familia de enzimas con diferentes especificidades de sustrato, aumentan la polaridad de varios fármacos y metabolitos de fármacos, facilitando así su excreción. Las mutaciones en el gen que codifica la **bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa** pueden dar como resultado que la enzima codificada tenga poca o ninguna actividad. Los síndromes cuya presentación clínica reflejan la gravedad de la alteración incluyen el síndrome de Gilbert y dos tipos de síndrome de Crigler-Najjar.

Síndrome de Gilbert

El síndrome de Gilbert resulta inofensivo siempre que se conserve en alrededor de 30% la actividad de la bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo I

La ictericia congénita grave (más de 20 mg de bilirrubina por dL de suero) y el daño cerebral que la acompaña en el síndrome de Crigler-Najjar tipo I reflejan la ausencia completa de actividad UDP-glucuronosiltransferasa hepática. En estos casos la fototerapia reduce en alguna medida los niveles de bilirrubina en plasma, pero el fenobarbital no tiene ningún efecto beneficioso. La enfermedad suele ser mortal en los primeros 15 meses de vida.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo II

En el síndrome Crigler-Najjar tipo II, se conserva algo de la actividad de la UDP-glucuronosiltransferasa de la bilirrubina. Por tanto, esta condición es más benigna que el síndrome de tipo I. La bilirrubina sérica no tiende a exceder los 20 mg/dL de suero y los pacientes responden al tratamiento con grandes dosis de fenobarbital.

Hiperbilirrubinemia tóxica

La **hiperbilirrubinemia no conjugada** puede ser resultado de una **disfunción hepática inducida por toxinas** causada, por ejemplo, por el cloroformo, las arsfenaminas, el tetracloruro de carbono, el acetaminofén, el virus de la hepatitis, la cirrosis o el envenenamiento por hongos tipo Amanita. Estos trastornos adquiridos implican un daño de las células del parénquima hepático que dificulta la conjugación de la bilirrubina.

La obstrucción en el árbol biliar es la causa más común de hiperbilirrubinemia conjugada

La **hiperbilirrubinemia conjugada** suele ser el resultado de la obstrucción de los conductos biliares hepáticos o comunes, la mayoría de las veces debido a **cálculos biliares** o al **cáncer de la cabeza del páncreas** (**figura 31-14**). El diglucurónido de bilirrubina que no se puede excretar regurgita en las venas y linfáticos hepáticos, la bilirrubina conjugada aparece en la sangre y en la orina (**ictericia colúrica**) y las heces adquieren típicamente un color pálido.

El término **ictericia colestásica** incluye tanto los casos de ictericia obstructiva extrahepática como los de hiperbilirrubinemia conjugada, debido a la microobstrucción de los conductillos biliares intrahepáticos por hepatocitos dañados, tal y como puede ocurrir en la hepatitis infecciosa.

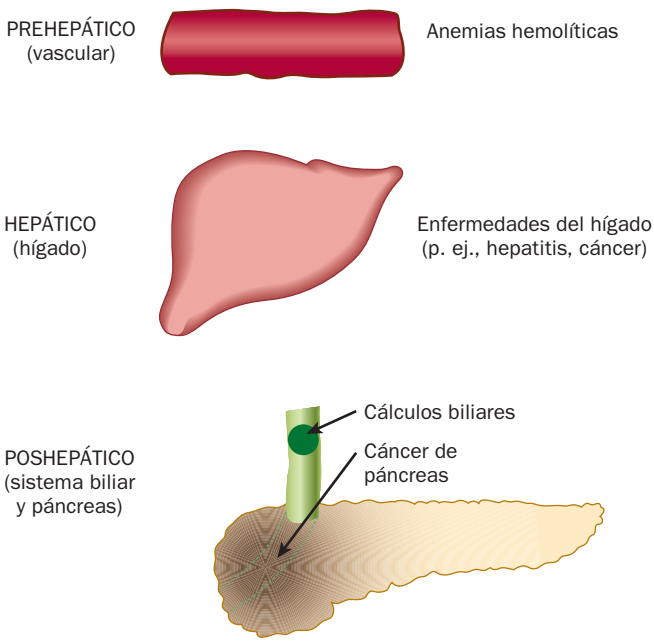


FIGURA 31-14 Principales causas de ictericia. La ictericia prehepática indica eventos en el torrente sanguíneo, las causas principales son las diversas anemias hemolíticas. La **ictericia hepática** se debe a hepatitis u otras enfermedades hepáticas (p. ej., cáncer). La **ictericia poshepática** se refiere a eventos en el árbol biliar, cuyas principales causas son la obstrucción del conducto biliar común por un cálculo biliar (cálculos biliares) o por cáncer de la cabeza del páncreas.

CUADRO 31-4 Resultados de laboratorio en pacientes normales y en pacientes con ictericia debida a tres causas diferentes

Condición	Bilirrubina sérica	Urobilinógeno urinario	Bilirrubina urinaria	Urobilinógeno fecal
Normal	Directa: 0.1-0.4 mg/dL	0-4 mg/24 h	Ausente	40-280 mg/24 h
	↑Indirecta: 0.2-0.7 mg/dL			
Anemia hemolítica	↑Indirecta	Aumentado	Ausente	Aumentado
Hepatitis	↑Directa e indirecta	Disminuido si la microobstrucción está presente	Presente si ocurre una microobstrucción	Disminuido
Ictericia obstructiva[a]	↑Directa	Ausente	Presente	Sólo trazas o ausente

[a] Las causas más comunes de ictericia obstructiva (poshepática) son el cáncer de la cabeza del páncreas y un cálculo biliar alojado en el conducto biliar común. La presencia de bilirrubina en la orina también se conoce como coluria, por tanto, la hepatitis y la obstrucción del conducto biliar común causan ictericia colúrica; mientras que la ictericia de la anemia hemolítica también se conoce como acolúrica. Los resultados de laboratorio en pacientes con hepatitis son variables, dependiendo de la extensión del daño a las células parenquimatosas y de la extensión de la microobstrucción de los conductos biliares. Los niveles séricos de **alanina aminotransferasa** y **aspartato aminotransferasa** suelen ser marcadamente elevados en la hepatitis, mientras que en la enfermedad hepática obstructiva se encuentran elevados los niveles séricos de fosfatasa alcalina.

Síndrome de Dubin-Johnson

Este trastorno autosómico recesivo benigno consiste en una **hiperbilirrubinemia conjugada** en la infancia o durante la vida adulta. La hiperbilirrubinemia es causada por mutaciones en el gen que codifica la proteína involucrada en la **secreción** de bilirrubina conjugada en la bilis.

Parte de la bilirrubina conjugada puede unirse covalentemente a la albúmina

Cuando los niveles de bilirrubina conjugada permanecen altos en el plasma, una fracción puede unirse covalentemente a la albúmina. Esta fracción, denominada **δ-bilirrubina**, tiene una **vida media** en plasma **mayor** que la bilirrubina conjugada convencional y permanece elevada durante la recuperación de la ictericia obstructiva. Por tanto, algunos pacientes continúan con ictericia aún después de que los niveles de bilirrubina conjugada circulante han retornado a la normalidad.

El urobilinógeno urinario y la bilirrubina son indicadores clínicos

En la **obstrucción completa del conducto biliar**, la bilirrubina no tiene acceso al intestino para su conversión a urobilinógeno, por lo que no hay urobilinógeno presente en la orina. La presencia de bilirrubina conjugada en la orina sin urobilinógeno sugiere ictericia obstructiva intrahepática o poshepática.

En la **ictericia secundaria a la hemólisis** el aumento de la producción de bilirrubina conduce a una mayor producción de **urobilinógeno**, que entonces aparece en la orina en grandes cantidades. Por lo general, en la ictericia hemolítica no se encuentra bilirrubina en la orina, por lo que la combinación de urobilinógeno aumentado y la ausencia de bilirrubina sugiere una ictericia hemolítica. El aumento de la destrucción de sangre por cualquier causa provoca un aumento de urobilinógeno en la orina.

El **cuadro 31-4** resume resultados de laboratorio obtenidos de pacientes con ictericia debido a causas prehepáticas, hepáticas o poshepáticas**: anemia hemolítica** (prehepática), **hepatitis** (hepática) y **obstrucción del conducto biliar común** (poshepática); véase la figura 31-14. Las pruebas de laboratorio en **sangre** (evaluación de la posibilidad de anemia hemolítica y medición del tiempo de protrombina) y en el **suero** (p. ej., electroforesis de proteínas, fosfatasa alcalina y las actividades de la alanina aminotransferasa y la aspartato aminotransferasa) también ayudan a distinguir entre las causas de ictericia prehepática, hepática y poshepática.

RESUMEN

- Sugerencia: El hem de hemoproteínas como la hemoglobina y los citocromos es una porfirina que contiene hierro y está compuesta por cuatro anillos de pirrol unidos por puentes de metino.
- En los cuatro anillos de pirrol del hem los ocho sustituyentes metilo, vinilo y propionilo están dispuestos en una secuencia específica. El ion de metal (Fe^{2+} en la hemoglobina y Mg^{2+} en la clorofila) se une a los cuatro átomos de nitrógeno de los anillos de pirrol.
- La biosíntesis del anillo del hem involucra ocho reacciones catalizadas por enzimas, algunas de las cuales ocurren en las mitocondrias, otras en el citosol.
- La síntesis del hem comienza con la condensación de succinil-CoA y glicina para formar ALA. Esta reacción es catalizada por ALAS1, la enzima reguladora de la biosíntesis del hem.
- La síntesis de ALAS1 aumenta en respuesta a un bajo nivel del hem disponible. Por ejemplo, ciertos fármacos que promueven la síntesis de la proteína del hem citocromo P450, (p. ej., el fenobarbital), desencadenan indirectamente una síntesis mejorada de ALAS1 que de ese modo agota el conjunto del hem P450. Por el contrario, la ALAS2 no está regulada por los niveles del hem y, en consecuencia, tampoco por los fármacos que promueven la síntesis de citocromo P450.
- Las anormalidades genéticas de siete de las ocho enzimas de la biosíntesis del hem dan como resultado porfirias heredadas. Los eritrocitos y el hígado son los sitios principales de expresión de las porfirias. En estos casos son comunes la fotosensibilidad y los problemas neurológicos. La ingesta de ciertas toxinas (p. ej., plomo) puede causar porfiria adquirida. Se pueden detectar cantidades aumentadas de porfirinas o sus precursores en sangre y orina, lo que facilita el diagnóstico.
- El catabolismo del anillo del hem, iniciado por la enzima mitocondrial hem oxigenasa, produce un tetrapirrol lineal, la biliverdina. La posterior reducción de biliverdina en el citosol forma bilirrubina.
- La bilirrubina se une a la albúmina para ser transportada de los tejidos periféricos al hígado, donde es absorbida por los hepatocitos. El hierro del hem se libera y se reutiliza.

- La solubilidad en agua de la bilirrubina se incrementa a través de la adición por molécula de bilirrubina de dos moléculas de la parte altamente polar de glucuronosilo derivado de UDP-glucuronato. El enlace de los restos glucuronosilo es catalizado por la bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa, una enzima perteneciente a una gran familia de enzimas con diferentes especificidades de sustrato que por aumentar la polaridad de varios fármacos y de sus metabolitos, facilita así su excreción.
- Las mutaciones en el gen codificante dan como resultado una actividad reducida o ausente de la actividad UDP-glucuronosiltransferasa de la bilirrubina. Las formas clínicas que reflejan la gravedad de la(s) mutación(es) incluyen el síndrome de Gilbert y dos tipos de síndrome de Crigler-Najjar, condiciones cuya gravedad depende de la extensión de de la actividad remanente de la glucuronosiltransferasa.
- Después de la secreción de la bilirrubina de la bilis al intestino, las enzimas bacterianas convierten la bilirrubina en urobilinógeno y urobilina, sustancias que se excretan en las heces y la orina.
- La medición colorimétrica de la bilirrubina se basa en el color que adquiere la bilirrubina cuando reacciona con el ácido sulfanílico diazotizado. Los análisis realizados en *ausencia* de metanol agregado miden la "bilirrubina directa" (es decir, el glucurónido de bilirrubina), sin embargo, las pruebas realizadas en *presencia* de metanol añadido miden la bilirrubina total. La diferencia entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa, denominada "bilirrubina indirecta", es la bilirrubina no conjugada.
- La ictericia es el resultado de un nivel elevado de bilirrubina en el plasma. Las causas de la ictericia pueden ser prehepáticas (p. ej., las anemias hemlíticas), hepáticas (p. ej., la hepatitis) o poshepáticas (p. j., la obstrucción del conducto biliar común). Las mediciones de la bilirrubina total y no conjugada del plasma, del urobilinógeno urinario y de la bilirrubina, así como la medición de la actividad de ciertas enzimas séricas y el análisis de muestras de heces, ayudan a discriminar las causas de la ictericia.

REFERENCIAS

Ajioka RS, Phillips JD, Kushner JP. Biosynthesis of heme in mammals. *Biochim Biophys Acta* 2006;(1763)723.

Desnick RJ, Astrin KH. The porphyrias. In: Fauci AS (ed.). *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17a ed. McGraw-Hill; 2008.

Dufour DR. Liver disease. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds.). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier Saunders; 2006.

Higgins T, Beutler E, Doumas BT. Hemglobin, iron and bilirubin. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds.). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier Saunders; 2006.

Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of liver function. In: Fauci AS (ed.). *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17a ed. McGraw-Hill; 2008.

Wolkoff AW. The hyperbilirubinemias. In: Fauci AS (ed.). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17a ed. McGraw-Hill; 2008.

Preguntas del examen

Sección VI. Metabolismo de las proteínas y los aminoácidos

1. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
   A. La Δ^1- pirrolina-5-carboxilato es un intermediario tanto en la biosíntesis como en el catabolismo de L-prolina.
   B. Los tejidos humanos pueden formar aminoácidos dietéticos no esenciales a partir de compuestos intermedios anfibólicos o de aminoácidos dietéticamente esenciales.
   C. En el tejido hepático de los seres humanos se puede formar serina a partir del intermedio glucolítico 3-fosfoglicerato.
   D. La reacción catalizada por fenilalanina hidroxilasa interconvierte la fenilalanina y la tirosina.
   E. El poder reductor de la tetrahidrobiopterina se deriva en última instancia de NADPH.
2. Identifique el metabolito que NO funciona como precursor de un aminoácido dietéticamente esencial:
   A. α-ketoglutarato
   B. 3-fosfoglicerato
   C. Glutamato
   D. Aspartato
   E. Histamina
3. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA.
   A. La selenocisteína está presente en los sitios activos de ciertas enzimas humanas.
   B. La selenocisteína se inserta en las proteínas mediante un proceso postraduccional.
   C. La transaminación de α-cetoácidos en la dieta puede reemplazar a los aminoácidos esenciales de la dieta leucina, isoleucina y valina.
   D. La conversión de peptidil prolina a peptidil-4-hidroxiprolina va acompañada de la incorporación de oxígeno en el succinato.
   E. La serina y la glicina se interconvierten en una única reacción en la que participan derivados de tetrahidrofolato.
4. Seleccione la respuesta correcta:
   La primera reacción en la degradación de la mayoría de los aminoácidos proteicos implica la participación de:
   A. NAD^+
   B. Pirofosfato de tiamina (TPP)
   C. Fosfato de piridoxal
   D. FAD
   E. NAD^+ + y TPP
5. Identifique cuál aminoácido es el principal contribuyente al transporte de nitrógeno destinado a la excreción como urea:
   A. Alanina
   B. Glutamina
   C. Glicina
   D. Lisina
   E. Ornitina
6. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
   A. El síndrome de Angelman está asociado con una ubiquitina ligasa E3 defectuosa.
   B. Después de una comida rica en proteínas, los tejidos esplácnicos liberan predominantemente aminoácidos de cadena ramificada, que son absorbidos por el tejido muscular periférico.
   C. La velocidad de la gluconeogénesis hepática a partir de la glutamina excede a la de cualquier otro aminoácido.
   D. La conversión catalizada por L-α-aminooxidasa de un α-aminoácido a su correspondiente α-cetoácido es acompañada por la liberación de NH_4^+.
   E. Signos y síntomas similares o incluso idénticos pueden asociarse con diferentes mutaciones de un gen que codifica una enzima determinada.
7. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
   A. Las secuencias PEST se dirigen a algunas proteínas para su degradación rápida.
   B. El ATP y la ubiquitina típicamente participan en la degradación de las proteínas asociadas a la membrana y de otras proteínas con vidas medias largas.
   C. Las moléculas de ubiquitina se unen a proteínas blanco mediante enlaces peptídicos no α.
   D. Los descubridores de la degradación proteica mediada por ubiquitina recibieron un premio Nobel.
   E. La degradación de las proteínas etiquetadas con ubiquitina tiene lugar en el proteosoma, una macromolécula de múltiples subunidades presente en todos los organismos eucariotas.
8. Cuál de las siguientes declaraciones es LA INCORRECTA para los trastornos metabólicos del ciclo de la urea:
   A. La intoxicación por amoniaco es más severa cuando el bloqueo metabólico en el ciclo de la urea se produce antes de la reacción catalizada por la argininosuccinato sintasa.
   B. Los síntomas clínicos incluyen retraso mental y el rechazo de alimentos ricos en proteínas.
   C. Los signos clínicos pueden incluir acidosis.
   D. El aspartato proporciona el segundo nitrógeno del argininosuccinato.
   E. El manejo dietético se enfoca en una dieta baja en proteínas que se deben ingerir en pequeñas pero frecuentes cantidades de comida.
9. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
   A. Una función metabólica de la glutamina es secuestrar nitrógeno en una forma no tóxica.
   B. La glutamato deshidrogenasa hepática es alostéricamente inhibida por ATP y activada por ADP.
   C. La urea se forma a partir del amoniaco absorbido producido por bacterias entéricas y del amoniaco generado por la actividad metabólica de los tejidos.
   D. La acción concertada de la glutamato deshidrogenasa y la glutamato aminotransferasa puede denominarse transdesaminación.
   E. El fumarato generado durante la biosíntesis de argininosuccinato finalmente forma oxalacetato en reacciones en las mitocondrias catalizadas sucesivamente por fumarasa y malato-deshidrogenasa.
10. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
    A. La treonina proporciona el resto de tioetanol necesario para la biosíntesis de la coenzima A.
    B. La histamina surge por la descarboxilación de la histidina.
    C. La ornitina sirve como precursora tanto de la espermina como de la espermidina.
    D. La serotonina y la melatonina son metabolitos del triptófano.

E. La glicina, la arginina y la metionina contribuyen con átomos para la biosíntesis de la creatina.

11. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
    A. La creatinina excretada es una función de la masa muscular y se puede usar para determinar si un paciente ha proporcionado una muestra de orina completa de 24 horas.
    B. Muchos medicamentos y catabolitos de drogas se excretan en la orina como conjugados de glicina.
    C. El principal destino metabólico no proteico de la metionina es la conversión a *S*-adenosilmetionina.
    D. La concentración de histamina en el hipotálamo del cerebro muestra un ritmo circadiano.
    E. La descarboxilación de glutamina forma el neurotransmisor inhibidor GABA (γ-aminobutirato).
12. ¿Qué distingue las vías por las cuales cada uno de los siguientes aminoácidos aparece en las proteínas humanas?

    5-hidroxilisina
    γ-carboxiglutamato
    Selenocisteína
13. ¿Qué ventaja evolutiva se puede obtener por el hecho de que ciertos aminoácidos son dietéticamente esenciales para los sujetos humanos?
14. ¿Cómo se puede explicar que los defectos metabólicos que resultan en la ausencia completa de la actividad de la glutamato deshidrogenasa no han sido detectados?
15. ¿Cuál de las siguientes NO es una hemoproteína?
    A. Mioglobina
    B. Citocromo c
    C. Catalasa
    D. Citocromo P450
    E. Albúmina
16. Un hombre de 30 años de edad se presenta en la clínica con antecedentes de dolor abdominal intermitente, episodios de confusión y problemas psiquiátricos. Las pruebas de laboratorio revelaron aumentos de δ-aminolevulinato urinario y del porfobilinógeno. El análisis mutacional reveló una mutación en el gen de uroporfirinógeno I sintasa (porfobilinógeno desaminasa). El diagnóstico probable fue:
    A. Porfiria intermitente aguda
    B. Anemia sideroblástica ligada a X
    C. Porfiria eritropoyética congénita
    D. Porfiria cutánea tarda
    E. Porfiria variegata
17. Seleccione entre las siguientes afirmaciones la que NO ES CORRECTA:
    A. La bilirrubina es un tetrapirrol cíclico.
    B. La bilirrubina unida a albúmina se transporta al hígado.
    C. Los niveles altos de bilirrubina pueden causar daño al cerebro de los bebés recién nacidos.
    D. La bilirrubina contiene grupos metilo y vinilo.
    B. La bilirrubina no contiene hierro.
18. Una mujer de 62 años de edad se presenta en una clínica con ictericia intensa que ha ido aumentando constantemente durante los tres meses anteriores. Ella proporciona un historial de dolor abdominal superior severo que se irradia a la parte posterior, pérdida considerable de peso y la observación de que sus heces se tornaron muy pálidas por algún tiempo. Las pruebas de laboratorio revelan un nivel muy alto de bilirrubina directa y también niveles elevados de bilirrubina urinaria. El nivel plasmático de la alanina aminotransferasa (ALT) sólo está ligeramente elevado, mientras que está marcadamente aumentado el nivel de fosfatasa alcalina. La ecografía abdominal no proporciona evidencia de cálculos biliares. De los siguientes, ¿cuál es el diagnóstico más probable?
    A. Síndrome de Gilbert
    B. Anemia hemlítica
    C. Síndrome de Crigler-Najjar tipo I
    D. Carcinoma del páncreas
    E. Hepatitis infecciosa
19. Los laboratorios clínicos suelen utilizar ácido sulfanílico diazotizado para medir la bilirrubina sérica y sus derivados. ¿Cuál es la base física que le permite al laboratorio informar los resultados al médico con relación a estas dos formas de bilirrubina?
20. ¿Qué factores indican que está teniendo lugar la síntesis de hem?

SECCIÓN

VII

Estructura, función y replicación de macromoléculas informacionales

CAPÍTULO

32

Nucleótidos

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Escribir las fórmulas estructurales para representar los amino- y oxo- tautómeros de una purina y de una pirimidina y establecer qué tautómero predomina en condiciones fisiológicas.
- Reproducir las fórmulas estructurales para los nucleótidos principales presentes en el DNA y en el RNA y los nucleótidos menos comunes 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina y pseudouridina (ψ).
- Representar la D-ribosa o la 2-desoxirribosa-D-ribosa enlazada tanto a conformadores syn como a conformadores anti, nombrar el enlace entre el azúcar y la base, e indicar qué conformador predomina en la mayoría de las condiciones fisiológicas.
- Numerar los átomos C y N de un ribonucleósido pirimidina y de un desoxirribonucleósido purina, incluyendo la utilización de un número primo para los átomos C de los azúcares.
- Comparar el potencial de transferencia del grupo fosforilo de cada grupo fosforilo de un nucleósido trifosfato.
- Resumir las funciones fisiológicas de los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP.
- Reconocer que los polinucleótidos son macromoléculas direccionales formadas por mononucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster 3′→5′.
- Familiarizarse con las representaciones abreviadas de las estructuras de polinucleótidos tales como el pTpGpT o TGCATCA, para el cual el terminal 5′ siempre se muestra a la izquierda, y familiarizarse con que todos los enlaces fosfodiéster son 3′→5′.
- Indicar en qué forma inhiben el metabolismo los análogos sintéticos específicos de bases de purina y pirimidina y sus derivados, que se han utilizado como fármacos contra el cáncer.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de emplearse como precursores de los ácidos nucleicos, los nucleótidos de purina y pirimidina participan en funciones metabólicas tan diversas como el metabolismo energético, la síntesis de proteínas, la regulación de la actividad enzimática y la transducción de señales. Cuando se unen a las vitaminas o a los derivados de las vitaminas, los nucleótidos forman parte de muchas coenzimas. Como principales donantes y receptores de los grupos fosforilos en el metabolismo, los nucleósidos tri y difosfatos como el ATP y el ADP son los actores principales en la transducción de energía que acompaña a las interconversiones metabólicas y a la fosforilación oxidativa. Unido a los azúcares o a los lípidos, los nucleósidos constituyen la clave de los intermediarios biosintéticos. Los derivados del azúcar, la UDP-glucosa y la UDP-galactosa participan en las interconversiones del azúcar y en la biosíntesis del almidón y del glucógeno. Del mismo modo, los derivados lípido-nucleósido como el CDP-acilglicerol son intermediarios en la biosíntesis lipídica. Las funciones que realizan los nucleótidos en la regulación metabólica incluyen la fosforilación dependiente de ATP de enzimas metabólicas clave, la regulación alostérica de enzimas por ATP, ADP, AMP, y CTP, y el control por el ADP de la tasa de fosforilación oxidativa. Los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP sirven como segundos mensajeros en eventos regulados por las hormonas, y el GTP y el PIB desempeñan funciones fundamentales en la cascada de eventos que caracteriza las formas de transducción de señal. Además de las funciones centrales que realizan los nucleótidos en el metabolismo, sus aplicaciones médicas incluyen el uso de la purina sintética y de análogos de la pirimidina que contienen halógenos, tioles o átomos de nitrógeno adicionales en la quimioterapia contra el cáncer y el AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*), y como supresores de la respuesta inmune durante el trasplante de órganos.

QUÍMICA DE LAS PURINAS, PIRIMIDINAS, NUCLEÓSIDOS Y NUCLEÓTIDOS

Las purinas y las pirimidinas son compuestos heterocíclicos

Las purinas y las pirimidinas son **heterociclos** que contienen nitrógeno, estructuras cíclicas que contienen, además de carbono, otros (hetero) átomos como los de nitrógeno. Nótese que la molécula de pirimidina más pequeña tiene el nombre más *largo*, que la molécula de purina más grande tiene el nombre más *corto* y que sus anillos de seis átomos son numerados en sentidos contrarios (**figura 32-1**). Las purinas o las pirimidinas con un grupo de ‘NH_2 son bases débiles (valores de pK_a 3-4), aunque cuando el pH es bajo el protón presente está asociado, no como se podría esperar con el grupo amino exocíclico sino con un anillo de nitrógeno, típicamente el N1 de la adenina, el N7 de la guanina y el N3 de la citosina. El carácter plano de las purinas y las pirimidinas facilita su asociación cercana o “amontonamiento”, lo que estabiliza la doble cadena de DNA (véase capítulo 34). Los grupos oxo y amino de las purinas y las pirimidinas exhiben **tautomerismo** ceto-enol y amino-imino (**figura 32-2**), aunque las condiciones fisiológicas favorezcan fuertemente las formas oxo y amino.

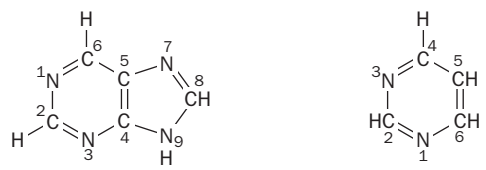


FIGURA 32-1 **La purina y la pirimidina.** Los átomos son numerados según el sistema internacional.

FIGURA 32-2 **Tautomerismo de los grupos funcionales oxo y amino de las purinas y pirimidinas.**

Los nucleósidos son *N*-glucosídicos

Los nucleó**sidos** son derivados de las purinas y las pirimidinas que tienen un azúcar unido a un anillo de nitrógeno de una purina o una pirimidina. Los números acompañados por el signo prima (p. ej., 2′ o 3′) distinguen a los átomos de azúcar de los del heterociclo. La D-ribosa es el azúcar en los **ribonucleósidos** y la 2 desoxi-D-ribosa es el azúcar en los **desoxirribonucleósidos**. Ambos tipos de azúcares están unidas al heterociclo por un **enlace a-*N*-glucosídico**, casi siempre al *N*-1 de una pirimidina o al *N*-9 de una purina (**figura 32-3**).

Los nucleótidos son nucleósidos fosforilados

Los mononucleó**tidos** son nucleó**sidos** con un grupo fosforilo esterificado al grupo hidroxilo del azúcar. Los nucleótidos 3′- y 5′- son nucleósidos con un grupo fosforilo en el grupo hidroxilo 3′ o 5′ del azúcar, respectivamente. Debido a que la mayoría de los nucleótidos son 5′-, el prefijo “5′-” por lo general es omitido cuando se nombran. Por tanto, UMP y dAMP representan nucleótidos con un grupo fosforilo en el C-5 de la pentosa. Los grupos fosforilos adicionales, ligados por **enlaces de anhídrido** de ácido al grupo fosforilo de un mononucleótido, forman los **nucleósidos difosfatos y trifosfatos** (**figura 32-4**).

Los *N*-glucósidos heterocíclicos existen como conformadores *syn* y *anti*

El impedimento estérico por el heterociclo dicta que no hay libertad de rotación sobre la unión β-*N*-glucosídica de los nucleósidos o los nucleótidos. Ambos, por tanto, existen como **conformadores syn o anti** no interconvertibles (**figura 32-5**). Aunque los conformadores *syn* y *anti* se hayan en la naturaleza, predominan los conformadores *anti*.

En el **cuadro 32-1** se listan las principales purinas y pirimidinas y sus derivados nucleósidos y nucleótidos. Las abreviaturas de una sola letra se usan para identificar a la adenina (A), a la guanina (G), a la citosina (C), a la timina (T), y al uracilo (U), si están libres o presentes en los nucleósidos o los nucleótidos. El prefijo “d” (desoxi) indica que el azúcar es 2′-desoxi-D-ribosa (p. ej., en dATP) (**figura 32-6**).

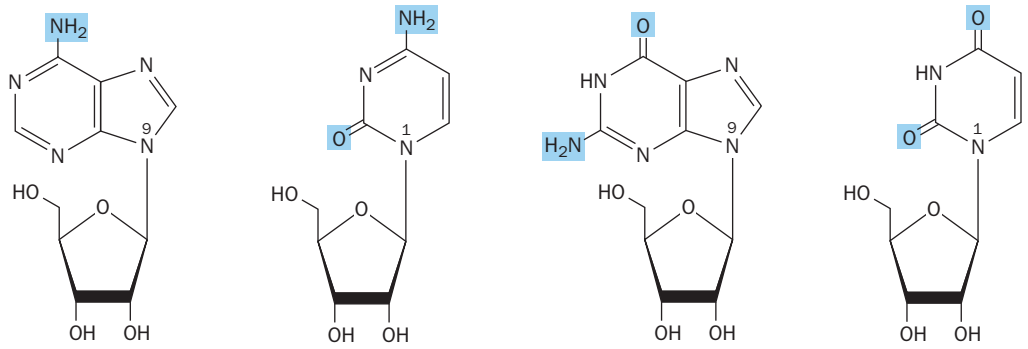


FIGURA 32-3 **Ribonucleósidos, representados como conformadores *syn*.**

La modificación de los polinucleótidos puede generar estructuras adicionales

En los DNA y los RNA se encuentran pequeñas cantidades adicionales de purinas y pirimidinas. Los ejemplos incluyen la 5-metilcitosina del DNA humano y bacteriano, la 5-hidroximetilcitosina de los ácidos nucleicos bacterianos y virales, y el mono- y di-*N*- metilado de adenina y guanina de los RNA mensajeros de los mamíferos (**figura 32-7**) que funciona en el reconocimiento del oligonucleótido y en la regulación de la vida media de los RNA. Las bases heterocíclicas libres incluyen la hipoxantina, la xantina y el ácido úrico (**figura 32-8**), intermediarios en el catabolismo de la adenina y la guanina (véase capítulo 33). Los heterociclos metilados de las plantas incluyen la xantina derivada de la cafeína del café, la teofilina del té y la teobromina del cacao (**figura 32-9**).

Los nucleótidos son ácidos polifuncionales

Los grupos fosforilo primarios y secundarios de los nucleósidos tienen valores de pK_a de aproximadamente 1.0 y 6.2, respectivamente. Por tanto, los nucleótidos soportan una carga negativa significativa de pH fisiológico. Los valores de pK_a de grupos fosforilo secundarios son tales que pueden ser donantes o receptores de protón a valores de pH de aproximadamente dos o más unidades por encima o por debajo de la neutralidad.

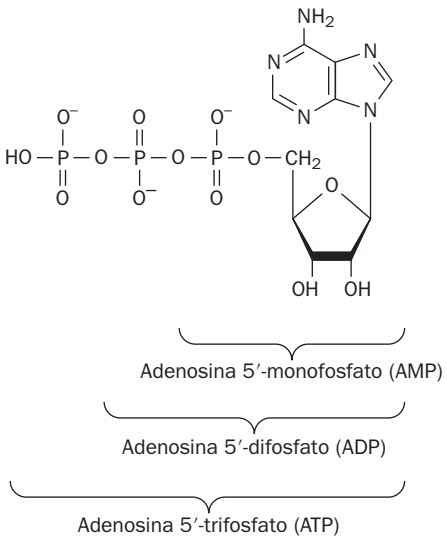


FIGURA 32-4 **ATP, su difosfato y su monofosfato.**

Los nucleótidos absorben luz ultravioleta

Los dobles enlaces conjugados derivados de la purina y la pirimidina absorben la luz ultravioleta. Mientras sus espectros son pH dependientes, con un pH de 7.0, todos los nucleótidos comunes absorben luz con una longitud de onda cercana a los 260 nm. La concentración de los nucleótidos y los ácidos nucleicos, por tanto, a menudo se expresa en términos de "absorbencia a los 260 nm". El efecto mutagénico de la luz ultravioleta se debe a que su absorción por nucleótidos en el DNA conlleva modificaciones químicas (véase capítulo 35).

Los nucleótidos cumplen diversas funciones fisiológicas

Además de sus funciones como precursores de los ácidos nucleicos, ATP, GTP, UTP, CTP y sus derivados, cada uno cumple funciones fisiológicas singulares que se discuten en otros capítulos. Los ejemplos seleccionados incluyen la función del ATP como transductor

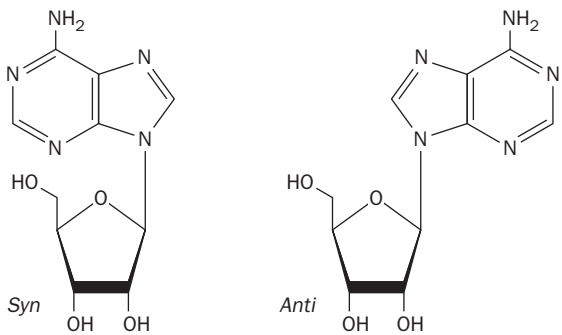
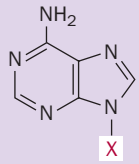
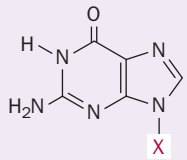
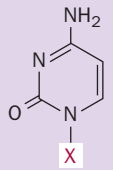
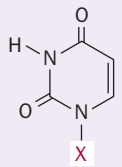
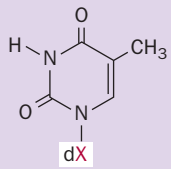
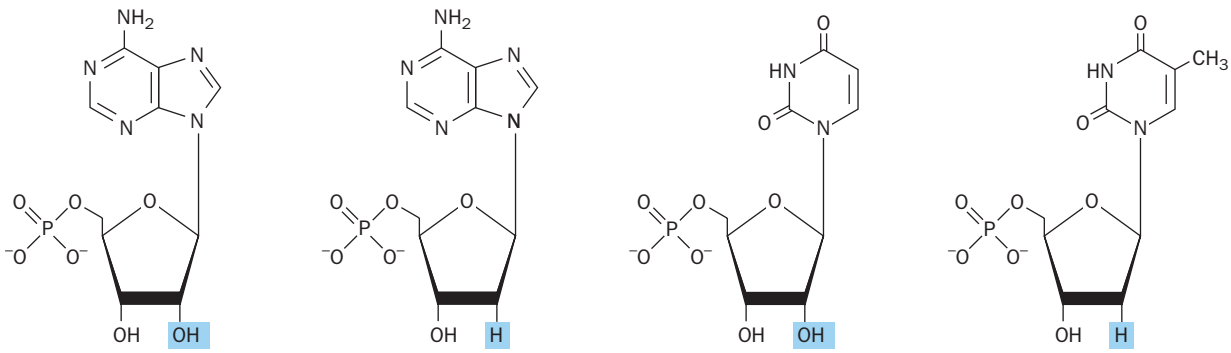


FIGURA 32-5 **Los conformadores *syn* y *anti* de adenosina difieren con respecto a la orientación sobre la unión *N*-glucosídica.**

CUADRO 32-1 Bases de purina, ribonucleósidos y ribonucleótidos

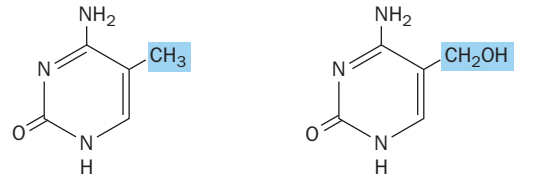
Purina o pirimidina	X = H	X = ribosa	X = ribosa fosfato
	Adenina	Adenosina	Monofosfato de adenosina (AMP, *Adenosine monophosphate*)
	Guanina	Guanosina	Monofosfato de guanosina (GMP, *Guanosine monophosphate*)
	Citosina	Citidina	Monofosfato de citidina (CMP, *Cytidine monophosphate*)
	Uracilo	Uridina	Monofosfato de uridina (UMP, *Uridine monophosphate*)
	Timina	Timidina	Monofosfato de timidina (TMP, *Thymidine monophosphate*)

biológico principal de la energía libre y segundo mensajero cAMP (**cuadro 32-1**). La concentración intracelular promedio de ATP, el nucleótido libre más abundante en las células de los mamíferos, es aproximadamente 1 mmol/L. Debido a que se requiere poco cAMP, la concentración del cAMP intracelular (cerca de 1 nmol/L) está a seis órdenes de magnitud por debajo de la del ATP. Otros ejemplos incluyen la adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato, (**figura 32-11**), el donante del sulfato para los proteoglicanos sulfatados (véase capítulo 50) y para los compuestos sulfato de los medicamentos; y el donante del grupo metilo *S*-adenosilmetionina (**figura 32-12**). El GTP se utiliza como un regulador alostérico y como una fuente de energía para la síntesis de proteínas y el cGMP (figura 32-10) funciona como un segundo mensajero en respuesta al óxido nítrico (NO) durante la relajación del músculo liso (véase capítulo 51).



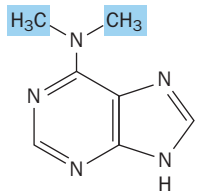
AMP dAMP UMP TMP

FIGURA 32-6 Estructuras del AMP, dAMP, UMP y TMP.

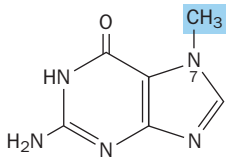


5-metilcitosina

5-hidroximetilcitosina



Dimetilaminoadenina



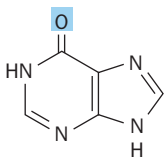
7-metilguanina

FIGURA 32-7 **Cuatro pirimidinas y purinas poco comunes que existen naturalmente.**

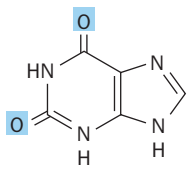
Los derivados del UDP-azúcar participan en las epimerizaciones del azúcar y en la biosíntesis de glucógeno (véase capítulo 18), los glucosil disacáridos y los oligosacáridos de las glucoproteínas y los proteoglicanos (véanse capítulos 46 y 50). El ácido UDP-glucurónico forma el glucurónido urinario de los conjugados de la bilirrubina (véase capítulo 31) y de muchos medicamentos, incluida la aspirina. El CTP participa en la biosíntesis de los fosfoglicéridos, la esfingomielina y otras esfingosinas sustituidas (véase capítulo 24). Finalmente, muchas coenzimas incorporan nucleótidos así como estructuras similares a los nucleótidos de purina y pirimidina (**cuadro 32-2**).

Los análogos de los nucleósidos trifosfatos, tienen un potencial de transferencia alto

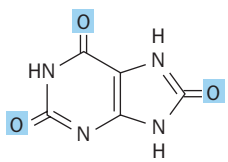
Los nucleótidos trifosfatos tienen dos enlaces anhídrido de ácido y un enlace éster. A diferencia de los ésteres, el anhídrido de ácido,



Hipoxantina
(6-oxopurina)



Xantina
(2,6-dioxopurina)



Ácido úrico
(2,6,8-trioxipurina)

FIGURA 32-8 **Estructuras de la hipoxantina, la xantina y el ácido úrico, representadas como tautómeros oxo.**

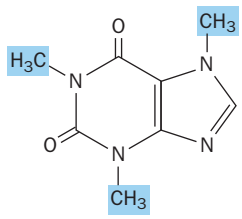


FIGURA 32-9 **Cafeína, una trimetilxantina. Las dimetil-xantinas teobromina y teofilina son similares, pero carecen del grupo metilo en *N*-1 y en *N*-7, respectivamente.**

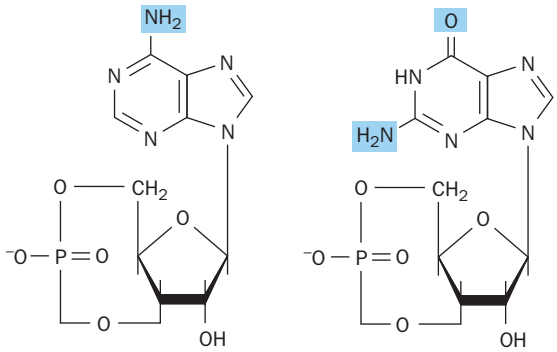


FIGURA 32-10 **cAMP, 3′,5′-AMP cíclico, y cGMP, 3′,5′-GMP cíclico.**

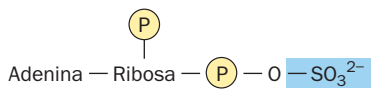


FIGURA 32-11 **Adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato.**

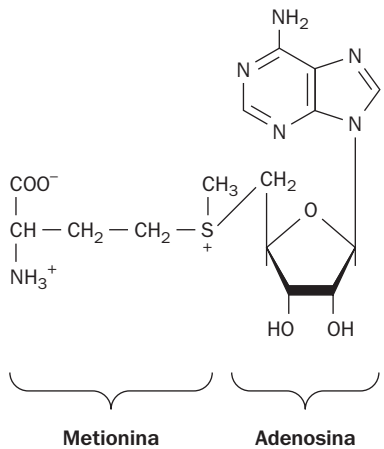
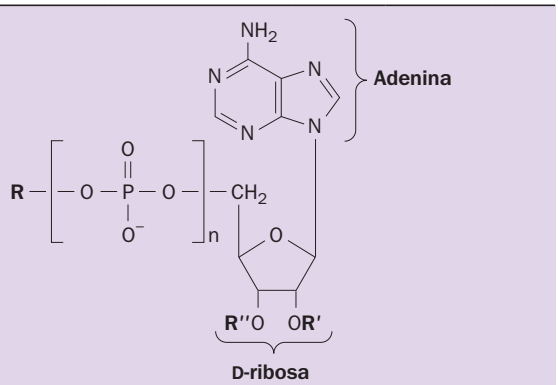


FIGURA 32-12 ***S*-adenosilmetionina.**

CUADRO 32-2 Muchas coenzimas y compuestos relacionados se derivan del monofosfato de adenosina



Coenzima	R	R′	R″	n
Metionina activa	Metionina[a]	H	H	0
Aminoácidos adenilatos	Aminoácido	H	H	1
Sulfato activo	SO_3^{2-}	H	PO_3^{2-}	1
3′,5′-AMP cíclico		H	PO_3^{2-}	1
NADP[b]	Nicotinamida	H	H	2
NADP[b]	Nicotinamida	PO_3^{2-}	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
Coenzima A	Pantotenato	H	PO_3^{2-}	2

[a] Reemplaza al grupo fosforilo.
[b] R es un derivado de la vitamina B.

tiene un potencial de transferencia alto. El $\Delta G^{0\prime}$ para la hidrólisis de cada uno de los dos grupos fosforilo terminales (β y γ) de un nucleósido trifosfato es alrededor de –7 kcal/mol (–30 kJ/mol). Este potencial de transferencia alto permite a los nucleósidos trifosfatos purina y pirimidina no sólo funcionar como grupo de transferencia de reagentes, más comúnmente de los grupos γ-fosforilo, sino que también, en ocasiones, les permite transferir parte de un nucleótido monofosfato con un adjunto liberador de PPi. La ruptura de un enlace anhídrido de ácido usualmente se acopla a algún proceso altamente endergónico, como la síntesis de enlace covalente, por ejemplo, en la polimerización de nucleósidos trifosfatos para formar un ácido nucleico (véase capítulo 34).

LOS ANÁLOGOS SINTÉTICOS DE LOS NUCLEÓTIDOS SE USAN EN LA QUIMIOTERAPIA

Los análogos sintéticos de purinas, pirimidinas, nucleósidos y nucleótidos modificados en el anillo heterocíclico o en el azúcar tienen numerosas aplicaciones en la medicina clínica. Sus efectos tóxicos reflejan la inhibición de las enzimas esenciales para la síntesis del ácido nucleico o su incorporación en el ácido nucleico, lo que trae como resultado la alteración en el emparejamiento de las bases. Los oncólogos emplean el 5-fluoro- o 5-iodouracilo, la 3-desoxiuridina, la 6-tioguanina y la 6-mercaptopurina, la 5- o 6-azauridina, la 5- o 6-azacitidina, y la 8-azaguanina (**figura 32-13**), los cuales se incorporan al DNA antes de la división celular. El análogo de la purina, el alopurinol, utilizado en el tratamiento de la hiperuricemia y la gota, inhibe la biosíntesis de la purina y la actividad de la xantina oxidasa. La citarabina se utiliza en la quimiote-

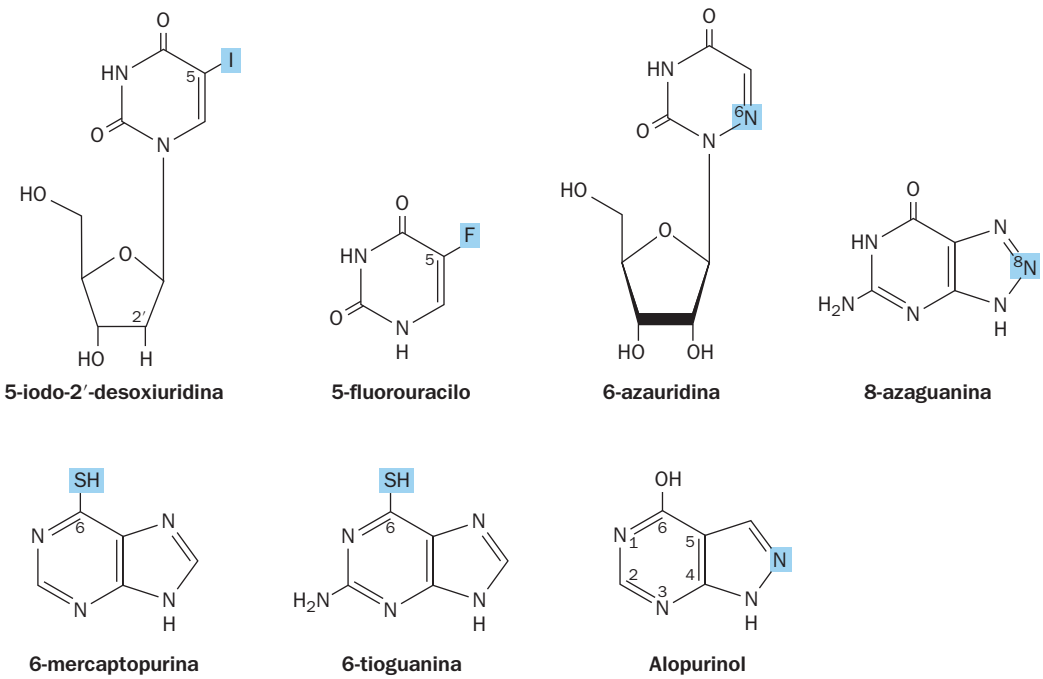
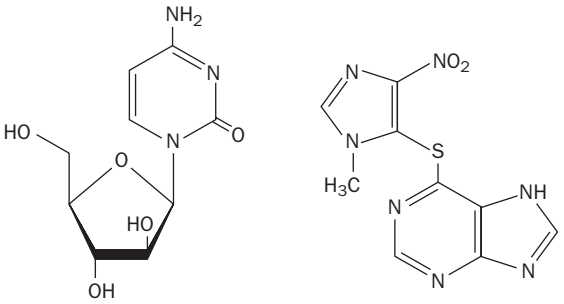


FIGURA 32-13 Análogos de purina y de pirimidina sintética seleccionados.



Citarabina **Azatioprina**

FIGURA 32-14 **Citarabina y azatioprina.**

rapia contra el cáncer, y la azatioprina, que se cataboliza a 6-mercaptopurina, se emplea durante el trasplante de órganos para suprimir el rechazo inmunológico (figura 32-14).

Los análogos del nucleósido trifosfato no hidrolizable son utilizados como herramientas de investigación

Los análogos sintéticos, no hidrolizables de los nucleósidos trifosfatos (**figura 32-15**) permiten a los investigadores distinguir los efectos de los nucleótidos, debido a la transferencia de fosforilo y a partir de los efectos mediados por la ocupación de sitios de unión del nucleótido alostérico en las enzimas reguladas (véase capítulo 9).

EL DNA Y EL RNA SON POLINUCLEÓTIDOS

El grupo 5′-fosforilo de un mononucleótido puede esterificar un segundo grupo hidroxilo, y formar un fosfodiéster. Es usual que este segundo grupo hidroxilo sea el 3′-OH de la pentosa de un segundo nucleótido y que forme un dinucleótido al cual parte de la pentosa queda unida por una enlace 3′,5′-fosfodiéster para conformar la "columna vertebral" del RNA y el DNA. La formación de un dinucleótido se puede representar como la eliminación del agua entre dos mononucleótidos. Sin embargo, la formación biológica de los dinucleótidos no ocurre de esta manera porque la reacción inversa, la hidrólisis de la unión fosfodiéster, es fuertemente favorecida por condiciones termodinámicas. Sin embargo, a pesar de una ΔG muy favorable, en ausencia de la catálisis por **fosfodiesterasas**, la hidrólisis de las uniones fosfodiéster del DNA sólo ocurre en largos lapsos de tiempo. El DNA, por tanto, persiste durante lapsos de tiempo tan considerables que hasta ha sido descubierto en fósiles. Los RNA son mucho menos estables que el DNA ya que el grupo 2′-hidroxilo del RNA (ausente en el DNA) funciona como un nucleófilo durante la hidrólisis de la unión 3′,5′-fosfodiéster.

La modificación postranslacional de los **polinucleótidos** preformados puede generar estructuras adicionales como la **pseudouridina**, un nucleósido en el cual la D-ribosa se une al C-5 del uracilo a través de un enlace de **carbono a carbono**, más que por el enlace habitual β-*N*-glucosídico. El nucleótido ácido pseudouridílico (ψ) surge por reordenamiento de un UMP de un tRNA preformado. Del mismo modo, la metilación por la *S*-adenosilmetionina de un UMP del tRNA preformado, conforma TMP (timidina monofosfato), un compuesto que contiene más ribosa que desoxirribosa.

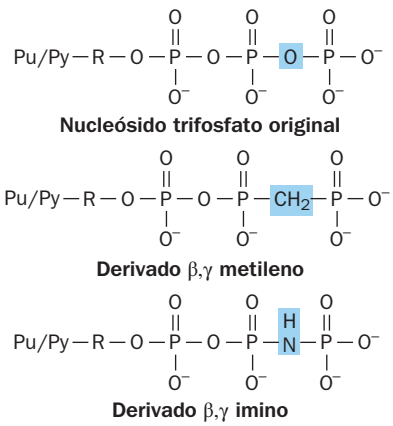


FIGURA 32-15 **Derivados sintéticos de nucleósidos trifosfato incapaces de someterse a liberación hidrolítica del grupo fosforilo terminal.** (Pu/Pi, una base purina o pirimidina; R, ribosa o desoxirribosa). Los señalados son los nucleósidos trifosfato originales (hidrolizables) (parte superior) y los β-metileno no hidrolizables (centro) y los derivados γ-imino (parte inferior).

Los polinucleótidos son macromoléculas direccionales

Los enlaces fosfodiéster direccionales 3′→5′ unen a los monómeros de los polinucleótidos. Por tanto, debido a que cada terminal de un polinucleótido es distinto, nos referiremos al "5′- terminal" o el "3′- terminal" de un polinucleótido. Debido a que los enlaces fosfodiéster son todos 3′→5′, la representación pGpGpApTpCpA indica que sólo el 5′-hidroxilo está fosforilado. Resumido: la representación GGATC, que sólo muestra la secuencia base, se escribe, por convención, como la 5′-base (G) a la *izquierda* y la 3′-base (C) a la *derecha*.

RESUMEN

- Bajo condiciones fisiológicas, son predominantes los tautómeros amino y oxo de las purinas, las pirimidinas, y sus derivados.
- Los ácidos nucleicos contienen, además de A, G, C, T y U, trazas de 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, pseudouridina (ψ) y heterociclos *N*-metilados.
- La mayoría de los nucleósidos contienen D-ribosa o 2 desoxi-D-ribosa unida al *N*-1 de una pirimidina o al *N*-9 de una purina por un enlace β-glucosídico en los que predominan conformadores *syn*.
- Un número primo indica el hidroxilo al cual se une el grupo fosforilo de los azúcares de mononucleótidos (ej., el 3′-GMP, 5′-dCMP). Los grupos fosforilo adicionales unidos al primero por enlaces anhídrido de ácido forman nucleósidos difosfatos y trifosfatos.
- Los nucleósidos trifosfatos tienen un potencial de transferencia alto y participan en la síntesis de la unión covalente. Los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP funcionan como segundos mensajeros intracelulares.

- Los mononucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster 3′→5′– forman polinucleótidos, macromoléculas direccionales con terminales 3′- y 5′- distintas. Cuando se representa como pTpGpT o TGCATCA, el terminal 5′- está en la izquierda y todas las uniones fosfodiéster son 3′→ 5′.
- Los análogos sintéticos de las bases purina y pirimidina y sus derivados se utilizan como medicamentos contra el cáncer ya sea por inhibir alguna enzima de la biosíntesis de nucleótido o por ser incorporados al DNA o al RNA.

REFERENCIAS

Adams RLP, Knowler JT, Leader DP. *The Biochemistry of the Nucleic Acids*. 11th ed. Chapman & Hall; 1992.

Blackburn GM, Gait MJ, Loaks D, *et al*. *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*. 3rd ed. RSC Publishing; 2006.

Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev* 2006; 58:87.

CAPÍTULO

33

Metabolismo de los nucleótidos de purina y pirimidina

Victor W. Rodwell, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comparar y diferenciar las funciones de los ácidos nucleicos de la dieta y la biosíntesis *de novo* en la producción de purinas y pirimidinas destinada a la biosíntesis de polinucleótidos.
- Explicar por qué los fármacos antifolato y los análogos del aminoácido glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- Representar la secuencia de reacciones que convierten la inosina monofosfato (IMP, *inosine monophosphate*), primero a adenosín monofosfato (AMP, *adenosine monophosphate*) y guanosín *monofosfato* (GMP, *guanoside monophosphate*) y posteriormente a sus nucleósidos trifosfatos correspondientes.
- Describir la formación a partir de los ribonucleótidos de los desoxirribonucleósidos (dNTPs, *deoxyribonucleotides*).
- Indicar la función reguladora del fosforribosil pirofosfato (PRPP, *phosphoribosyl pyrophosphate*) en la biosíntesis de purina hepática y en la reacción específica de la biosíntesis de purina hepática que es inhibida por retroalimentación del AMP y GMP.
- Establecer la importancia del control coordinado de la biosíntesis de los nucleótidos de purina y pirimidina.
- Identificar las reacciones discutidas que son inhibidas por los fármacos contra el cáncer.
- Escribir la estructura del producto final del catabolismo de la purina. Comentar sobre su solubilidad e identificar su función en la gota, en el síndrome de Lesch-Nyhan, y en la enfermedad de Von Gierke.
- Identificar las reacciones cuya afectación conduce a signos de patología y síntomas modificados.
- Indicar por qué hay pocos desórdenes clínicamente significativos del catabolismo de la pirimidina.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

A pesar de que una dieta puede ser rica en nucleoproteínas, las purinas y pirimidinas dietéticas no están incorporadas directamente en el tejido de los ácidos nucleicos. Los humanos sintetizan los ácidos nucleicos y sus derivados trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*), dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+, *nicotinamide and adenine dinucleotide*), coenzima A, etc., a partir de intermediarios anfibólicos. Sin embargo, los análogos de purina o de pirimidina *inyectados*, incluyendo los fármacos potenciales contra el cáncer pueden, sin embargo, ser incorporados en el ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*). La biosíntesis de los ribonucleótidos trifosfatos (NTPs, *ribonucleotide triphosphates*) de purina y pirimidina, y de los dNTP son precisamente eventos regulados. Los mecanismos de retroalimentación coordinados aseguran su producción en las cantidades y en los momentos apropiados para satisfacer la demanda fisiológica variable (p. ej., la división celular). Las enfermedades humanas que involucran anomalías en el metabolismo de las purinas incluyen la gota, el síndrome de Lesch-Nyhan, la deficiencia de adenosina desaminasa, y la deficiencia de la fosforilasa del nucleósido purina. Las enfermedades por biosíntesis de la pirimidina son más raras, pero incluyen la aciduria orótica. A diferencia de la baja solubilidad del ácido úrico formado por el catabolismo de las purinas, los produc-

tos finales del catabolismo de la pirimidina (dióxido de carbono, amoniaco, β-alanina, y γ-aminoisobutirato) son muy solubles en agua. Un desorden genético del catabolismo de la pirimidina, la aciduria β-hidroxibutírica, se debe a la deficiencia total o parcial de la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa. Este desorden del catabolismo de la pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada también es un desorden de la biosíntesis de los aminoácidos β, debido a que la formación de β-alanina y de β-aminoisobutirato está dañada. Una forma no genética puede ser provocada por la administración de 5-fluorouracilo a pacientes con niveles bajos de dihidropirimidina deshidrogenasa.

LAS PURINAS Y LAS PIRIMIDINAS NO SON ESENCIALES EN LA DIETA

Los tejidos humanos normales pueden sintetizar purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos en cantidades y momentos apropiados para satisfacer la demanda fisiológica variable. Los ácidos nucleicos y nucleótidos ingeridos, por tanto, no son esenciales en la dieta. Después de su degradación en el tracto intestinal, los mononucleótidos resultantes pueden ser absorbidos o convertidos en bases de purina y pirimidina. Las bases de purina son oxidadas entonces a ácido úrico, que puede ser asimilado y excretado en la orina. Aunque poca o ninguna purina o pirimidina de la dieta se incorpora al tejido de los ácidos nucleicos, los compuestos *inyectados* son incorporados. De esta forma la incorporación de la timidina inyectada [^{3}H] en el DNA recién sintetizado puede ser usada para medir la tasa de síntesis de DNA.

BIOSÍNTESIS DE LOS NUCLEÓTIDOS DE PURINA

A excepción de los parásitos protozoos, todas las formas de vida sintetizan los nucleótidos de purina y pirimidina. La síntesis de los intermediarios anfibólicos procede a tasas controladas apropiadas para todas las funciones celulares. Para alcanzar la homeostasis, los mecanismos intracelulares sensibilizan y regulan la cantidad total de los NTP, los cuales aumentan durante el crecimiento o regeneración del tejido cuando las células se están dividiendo rápidamente.

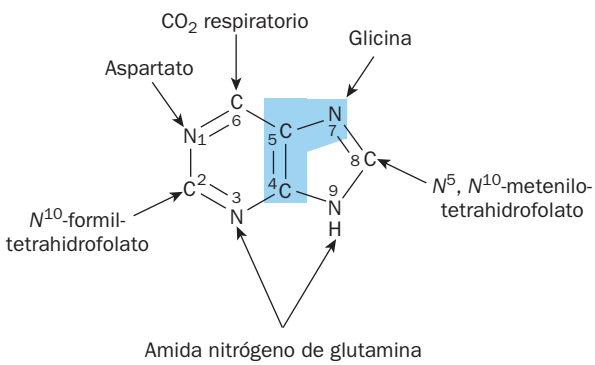


FIGURA 33-1 Fuentes de los átomos de nitrógeno y carbono del anillo de purina. Los átomos 4, 5, y 7 (**destacado en azul**) se derivan de la glicina.

Los nucleótidos de purina y pirimidina se sintetizan *in vivo* a tasas consecuentes con la demanda fisiológica. En las investigaciones tempranas de la biosíntesis de nucleótidos primero se emplearon aves, y luego la *Escherichia coli*. Los precursores isotópicos del ácido úrico con que alimentaron a las palomas, establecieron la fuente de cada átomo de una purina (**figura 33-1**) e iniciaron el estudio de los intermediarios de la biosíntesis de las purinas.

Los tejidos de las aves también sirvieron como una fuente de genes clonados que codifican las enzimas de la biosíntesis de la purina y las proteínas reguladoras para el control de la tasa de biosíntesis de purina.

Los tres procesos que contribuyen a la biosíntesis del nucleótido de purina son, en orden de importancia decreciente:

1. Síntesis a partir de intermediarios anfibólicos (síntesis *de novo*)
2. Fosforibosilación de purinas
3. Fosforilación de nucleósidos de purina

LA INOSINA MONOFOSFATO (IMP) SE SINTETIZA A PARTIR DE LOS INTERMEDIARIOS ANFIBÓLICOS

La reacción inicial de la biosíntesis de purina transfiere los dos grupos fosforilo del ATP al carbono 1 de la ribosa 5- fosfato formando fosforibosil pirofosfato (PRPP), se cataliza por la PRPP sintetasa, la EC 2.7.6.1. El producto final de las 10 reacciones consecutivas catalizadas por la enzima es el IMP (**figura 33-2**).

Luego de la síntesis de IMP, su división conduce al AMP y al GMP (**figura 33-3**). La transferencia posterior del fosforilo del ATP convierte al AMP y al GMP en adenosín difosfato (ADP, *adenosine diphosphate*) y guanosín difosfato (GDP, *guanosine diphosphate*) respectivamente. La conversión de GDP a GTP involucra una segunda transferencia de fosforilo del ATP, mientras que la conversión de ADP a ATP se alcanza principalmente por la fosforilación oxidativa (véase capítulo 13).

Catalizadores multifuncionales participan en la biosíntesis del nucleótido de purina

En las procariotas, cada reacción que se muestra en la figura 33-2 se cataliza por un polipéptido diferente. Por el contrario, las enzimas de las eucariotas son polipéptidos que poseen actividades catalíticas múltiples, cuyos sitios catalíticos adyacentes facilitan la canalización de los intermediarios entre los sitios. Tres enzimas multifuncionales distintas catalizan las reacciones ③, ④ y ⑥; las reacciones ⑦ y ⑧; y las reacciones ⑩ y ⑪ de la figura 33-2.

Los fármacos antifolatos y los análogos de la glutamina bloquean la biosíntesis del nucleótido de la purina

Los carbonos añadidos en reacciones ④ y ⑩ que se muestran en la figura 33-2 son aportados por los derivados del tetrahidrofolato. Los estados de deficiencia de la purina, aunque raro en humanos, generalmente reflejan una deficiencia de ácido fólico. Los compuestos que inhiben la formación de los tetrahidrofolatos y por tan-

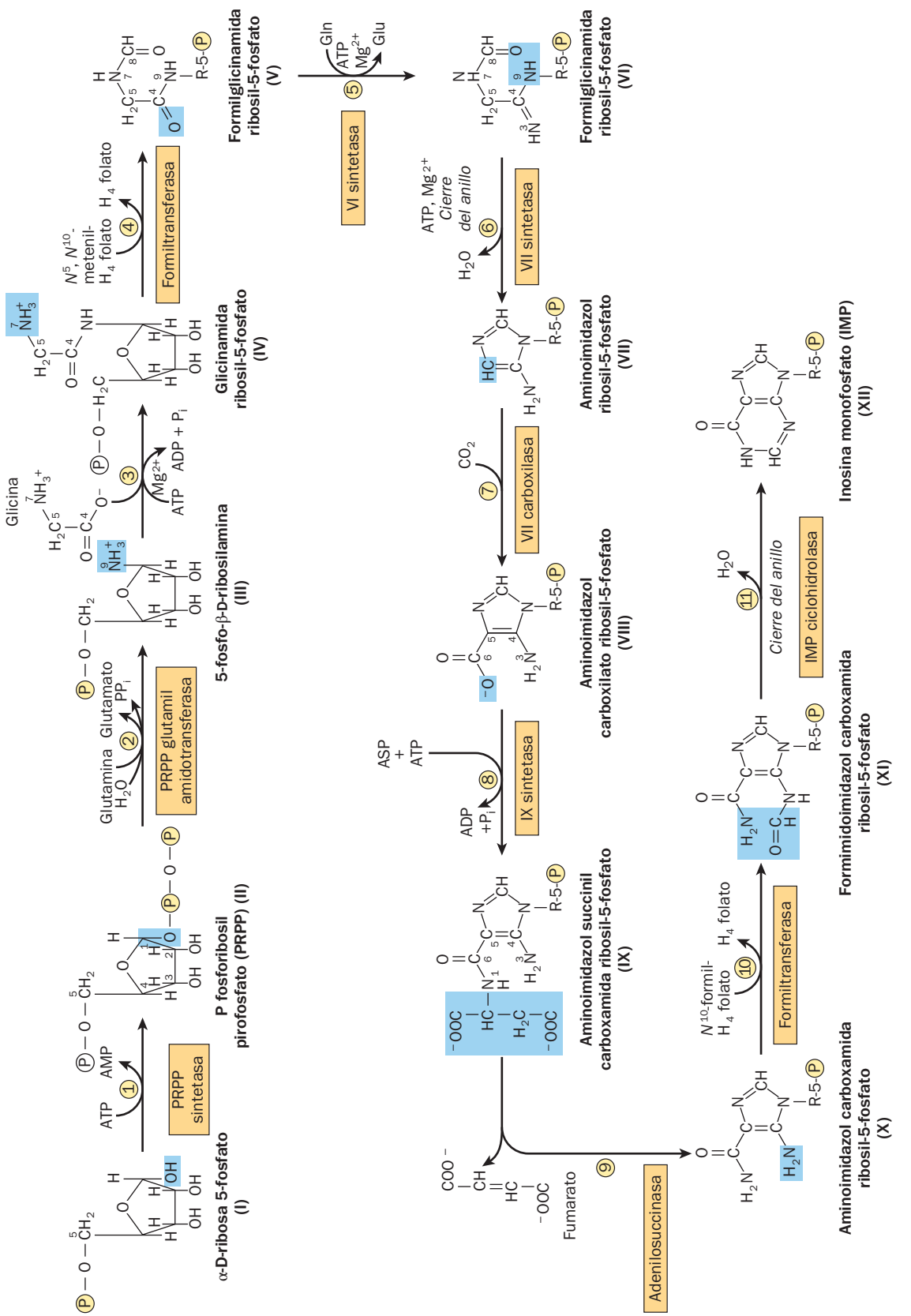


FIGURA 33-2 **Biosíntesis de la purina a partir de la ribosa 5-fosfato y el ATP.** Véase el texto para las explicaciones.

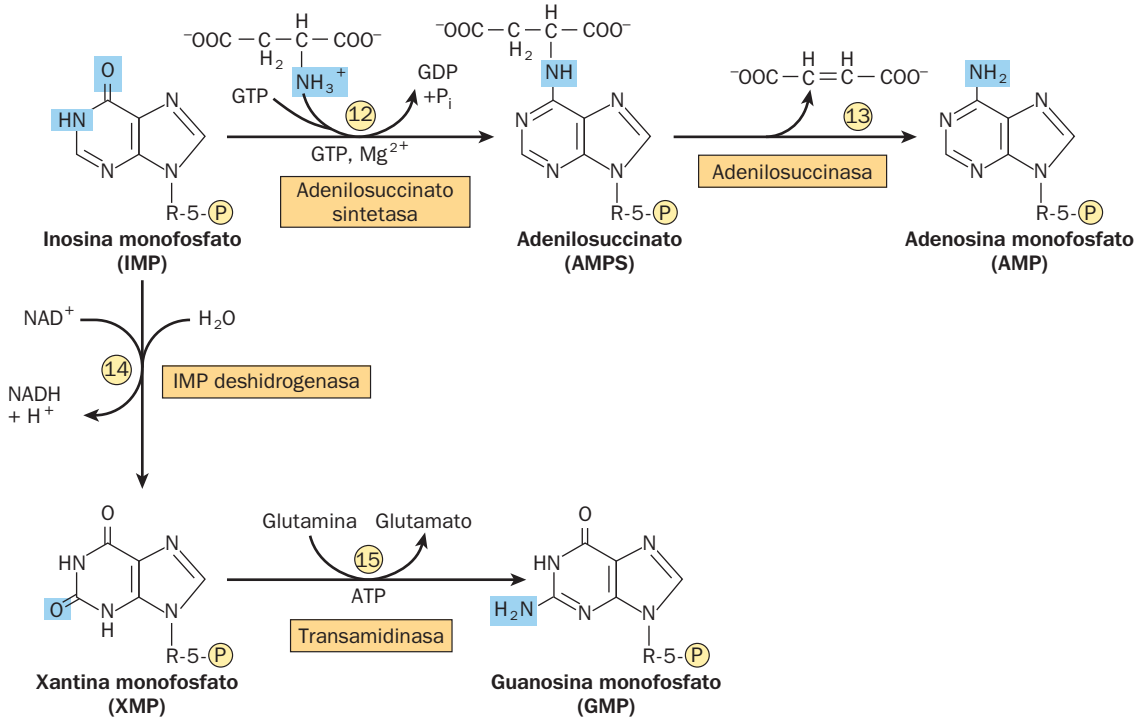


FIGURA 33-3 **Conversión de IMP a AMP y GMP.**

to bloquean la síntesis de purina se han utilizado en la quimioterapia contra el cáncer. Los compuestos inhibitorios y las reacciones que inhiben incluyen la **azaserina** (reacción ⑤, figura 33-2), la **diazanorleucina** (reacción ②, figura 33-2), la **6-mercaptopurina** (reacciones ⑬ y ⑭, figura 33-3), y el ácido **micofenólico** (reacción ⑭, figura 33-3).

"REACCIONES DE SALVAMENTO" CONVIERTEN A LAS PURINAS Y SUS NUCLEÓSIDOS EN MONONUCLEÓTIDOS

La conversión de purinas, sus ribonucleó**sidos** y sus desoxirribonucleó**sidos** a mononucleó**tidos** implica "reacciones de salvamento", que requieren mucho menos energía que la síntesis *de novo*. El mecanismo más importante implica la fosforribosilación por PRPP (estructura II, figura 33-2) de una purina libre (Pu, *free purine*) para formar la purina 5′-mononucleótido (Pu-RP, *purine 5'-mononucleotide*).

$$Pu + PR\text{–}PP \rightarrow Pu\text{–}RP + PP_i$$

La transferencia de un fosforilo del PRPP catalizado por la adenosina y la hipoxantina-fosforribosil transferasa (EC 2. 4.2.7 y EC 2.4.2.8, respectivamente), convierte a la adenina, la hipoxantina, y a la guanina en sus mononucleótidos (**figura 33-4**).

Un segundo mecanismo de salvamento involucra la transferencia de un fosforilo del ATP a un ribonucleó**sido** purina (Pu-R, *purine ribonucleoside*):

$$Pu\text{-}R + ATP \rightarrow PuR\text{-}P + ADP$$

La fosforilación de los nucleótidos de purina, catalizada por la adenosina quinasa (EC 2.7.1.20), convierte a la adenosina y la desoxiadenosina en AMP y dAMP. Del mismo modo, la desoxicitidina quinasa (EC 2.7.1.24) fosforila a la desoxicitidina y a la 2′-desoxiguanosina, formando 5'-monofosfato de desoxicitidina (dCMP, *deoxycytidine 5'-monophosphate*) y 5'-monofosfato de desoxiguanosina (dGMP, *deoxyguanosine 5'-monophosphate*), respectivamente.

El hígado, el sitio principal de la biosíntesis del nucleótido de purina, proporciona purinas y nucleósidos de purina para el salvamento y la utilización por los tejidos incapaces de su biosíntesis. El tejido cerebral humano tiene un nivel bajo de PRPP glutamil amidotransferasa, EC 2.4.2.14 (reacción ②, figura 33-2) de ahí que dependen en parte de las purinas exógenas. Los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares no pueden sintetizar 5-fosforribosilamina (estructura III, figura 33-2), por tanto también utilizan las purinas exógenas para formar los nucleótidos.

LA BIOSÍNTESIS DE LA PURINA HEPÁTICA ES ESTRICTAMENTE REGULADA

La retroalimentación por AMP y GMP regulan la PRPP glutamil amido transferasa

La biosíntesis de IMP es energéticamente costosa. Además del ATP, son consumidos la glicina, la glutamina, el aspartato, y los derivados del tetrahidrofolato reducido. Por tanto, es una ventaja de supervivencia regular de cerca la biosíntesis de purina en respuesta a una necesidad fisiológica variable. El determinante general de la tasa de biosíntesis del nucleótido de purina *de novo* es la concentración de PRPP. Esto, a su vez, depende de la tasa de síntesis, la utilización, la degradación y la regulación del PRPP. La

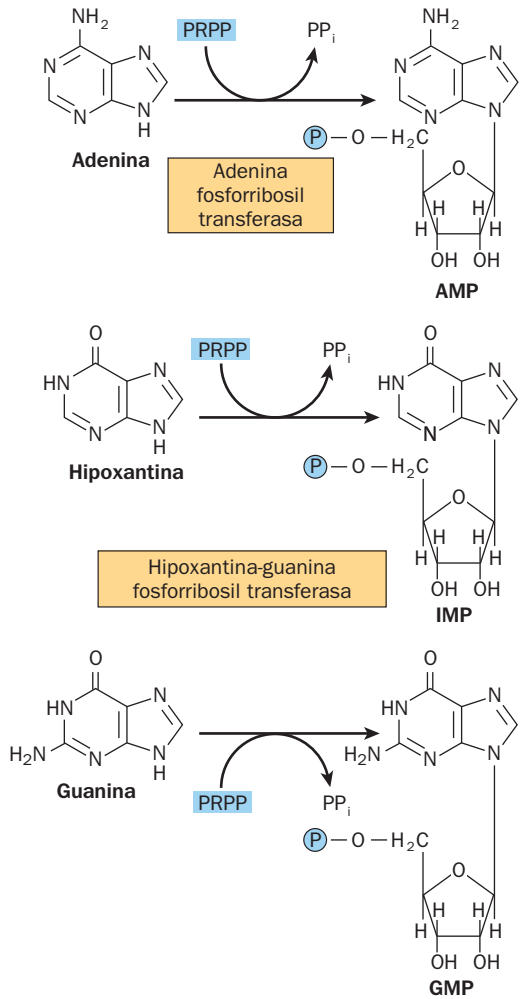


FIGURA 33-4 **La fosforribosilación de la adenina, la hipoxantina, y la guanina para formar AMP, IMP y GMP, respectivamente.**

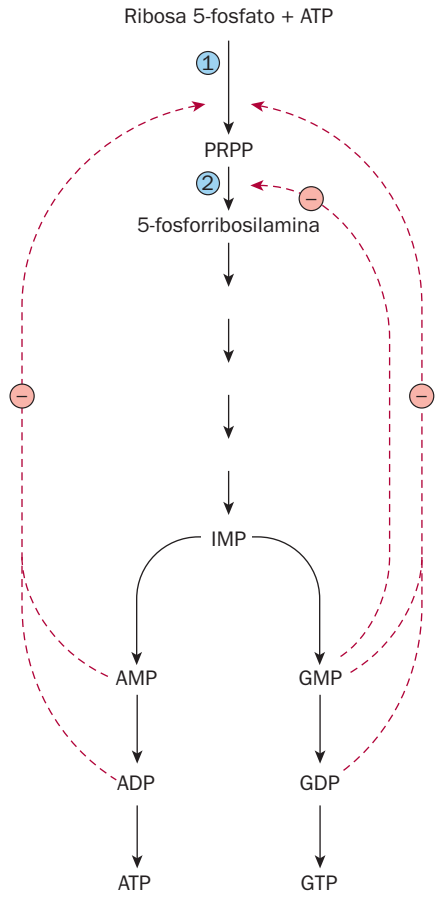


FIGURA 33-5 **Control de la tasa de la biosíntesis *de novo* del nucleótido de purina.** Las reacciones ① y ② se catalizan por PRPP sintetasa y por PRPP glutamil amidotransferasa, respectivamente. Las líneas sólidas representan el flujo químico. Las líneas rojas discontinuas representan la inhibición de la retroalimentación por los intermediarios de la vía.

tasa de síntesis del PRPP depende de la disponibilidad de la ribosa 5-fosfato y en la actividad de la PRPP sintetasa, EC 2.7.6.1 (reacción ② **figura 33-5**), una enzima cuya actividad es inhibida por retroalimentación por el AMP, ADP, GMP, y GDP. Los niveles elevados de estos fosfatos nucleósidos, por tanto señalan un decrecimiento total fisiológicamente apropiado en sus biosíntesis.

El AMP y el GMP regulan por retroalimentación su formación a partir del IMP

Además de la regulación del nivel de biosíntesis de PRPP, los mecanismos adicionales que regulan la conversión de IMP a ATP y GTP se resumen en la **figura 33-6**. La retroalimentación por el AMP inhibe la adenilosuccinato sintetasa, EC 6.3.4.4 (reacción ⑫, figura 33-3), y el GMP inhibe a la IMP deshidrogenasa, EC 1.1.1.205 (reacción ⑭, figura 33-3). Además, la conversión de IMP a adenilosuccinato en el camino hacia el AMP (reacción ⑫, figura 33-3) requiere GTP y la conversión de xantinilato (XMP, *xanthinylate*) a GMP requiere ATP. Esta regulación cruzada entre las vías del metabolismo de IMP sirve, por tanto, para balancear la biosíntesis de los nucleósidos trifosfatos de purina a través de la disminución

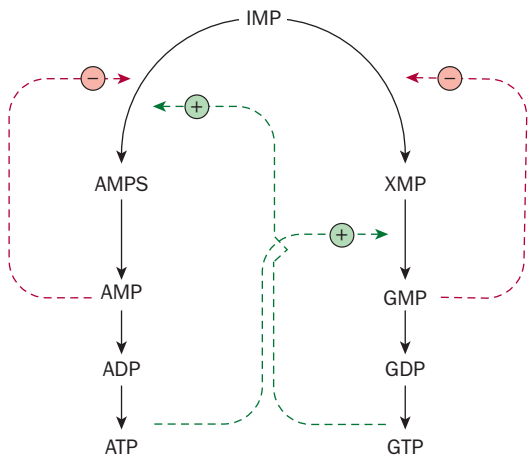


FIGURA 33-6 **Regulación de la conversión del IMP a nucleótidos de adenosina y nucleótidos de guanosina.** Las líneas sólidas representan el flujo químico. Las líneas verdes discontinuas representan los bucles de retroalimentación positiva ⊕ y las líneas rojas discontinuas representan los bucles de retroalimentación negativa ⊖. AMPS (*adenylosuccinate*): adenilosuccinato; XMP (*xanthosine monophosphate*): xantina monofosfato; sus estructuras se muestran en la figura 33-3.)

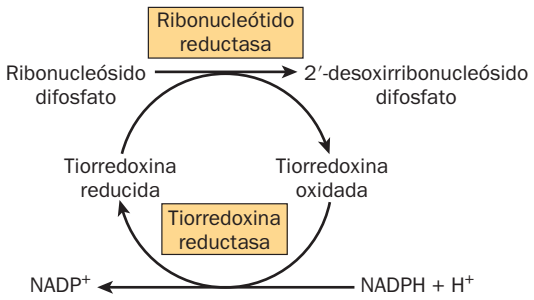


FIGURA 33-7 **Reducción de los ribonucleósidos difosfatos a 2′-desoxirribonucleósidos difosfatos.**

de la síntesis de un nucleótido de purina, cuando hay una deficiencia de otro nucleótido. El AMP y el GMP también inhiben la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, que convierte a la hipoxantina y a la guanina en IMP y GMP (figura 33-4), y la retroalimentación por el GMP inhibe el PRPP glutamil amidotransferasa (reacción ②, figura 33-2).

LA REDUCCIÓN DE LOS RIBONUCLEÓSIDOS DIFOSFATOS FORMA LOS DESOXIRRIBONUCLEÓSIDOS DIFOSFATOS

La reducción del 2′-hidroxilo de los ribonucleótidos de purina y pirimidina, catalizado por el complejo que incluye a la **ribonucleótido reductasa**, EC 1.17.4.1 (**figura 33-7**), provee los desoxirribonucleósidos difosfatos (dNDPs, *deoxyribonucleoside diphosphates*) necesarios para la síntesis y la reparación del DNA (véase capítulo 35). El complejo de enzimas sólo es funcional cuando las células sintetizan activamente el DNA. La reducción requiere de la tiorredoxina reducida, la tiorredoxina reductasa (EC 1.8.9) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH, *nicotinamide adenine-dinucleotide phosphate*). El reducido inmediato, la tiorredoxina reducida, se produce por la reducción dependiente de NADPH, de la tiorredoxina oxidada (figura 33-7). La reducción de los ribonucleósidos difosfatos (NDP, *ribonucleoside diphosphates*) a dNDP está sujeta a controles reguladores complejos que consiguen una producción equilibrada de dNTP para la síntesis del DNA (**figura 33-8**).

BIOSÍNTESIS DE LOS NUCLEÓTIDOS DE PIRIMIDINA

En la **figura 33-9** se ilustran los intermediarios y las enzimas de la biosíntesis del nucleótido de la pirimidina. El catalizador para la reacción iniciales la carbamoil fosfato sintetasa II *citosólica* (EC 6.3.5 5.), una enzima diferente del carbamoil fosfato sintetasa I *mitocondrial* de la síntesis de la urea (véase figura 28-16). Por tanto, la compartimentación proporciona una cantidad independiente de carbamoil fosfato para cada proceso. A diferencia de la biosíntesis de purina donde PRPP sirve como andamio para el ensamblado del

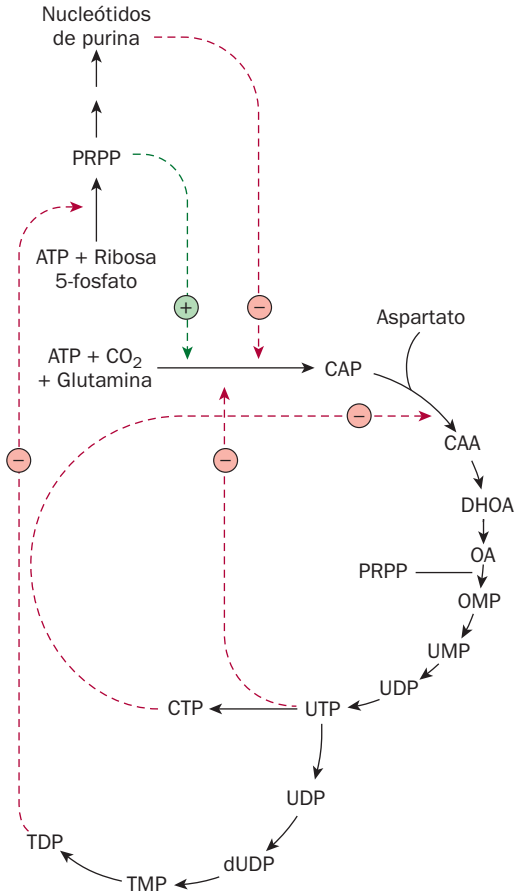


FIGURA 33-8. **Los aspectos reguladores de la biosíntesis de los ribonucleótidos de purina y pirimidina y la reducción a sus respectivos 2′-desoxirribonucleótidos.** La línea verde discontinua representa un bucle de retroalimentación positiva. Las líneas rojas discontinuas representan un bucle de retroalimentación negativa. Las abreviaturas presentes son para los intermediarios en la biosíntesis de los nucleótidos de pirimidina cuyas estructuras se muestran en la figura 33-9.CAA (*carbamoyl aspartate*): carbamoil aspartato; DHOA (*dihydroorotate*): dihidroorotato; OA (*orotic acid*): ácido orótico; OMP (*orotidine monophosphate*): orotidina monofosfato; PRPP: fosforribosil pirofosfato.

anillo de la purina (figura 33-2), el PRPP participa en la biosíntesis de pirimidina, sólo después del ensamblado del anillo de pirimidina. En cuanto a la biosíntesis de pirimidinas, la biosíntesis del nucleósido de purina es energéticamente costosa.

Las proteínas multifuncionales catalizan las reacciones iniciales de la biosíntesis de la pirimidina

Cinco de las seis primeras actividades de la enzima de la biosíntesis de la pirimidina residen en los **polipéptidos multifuncionales**. El CAD, un polipéptido simple denominado por las primeras letras de sus actividades enzimáticas, cataliza las tres primeras reacciones que se muestran en la figura 33-9. Una segunda enzima bifuncional cataliza las reacciones ⑤ y ⑥ que se muestran en la figura 33-9. La cercana proximidad de los múltiples sitios activos en un

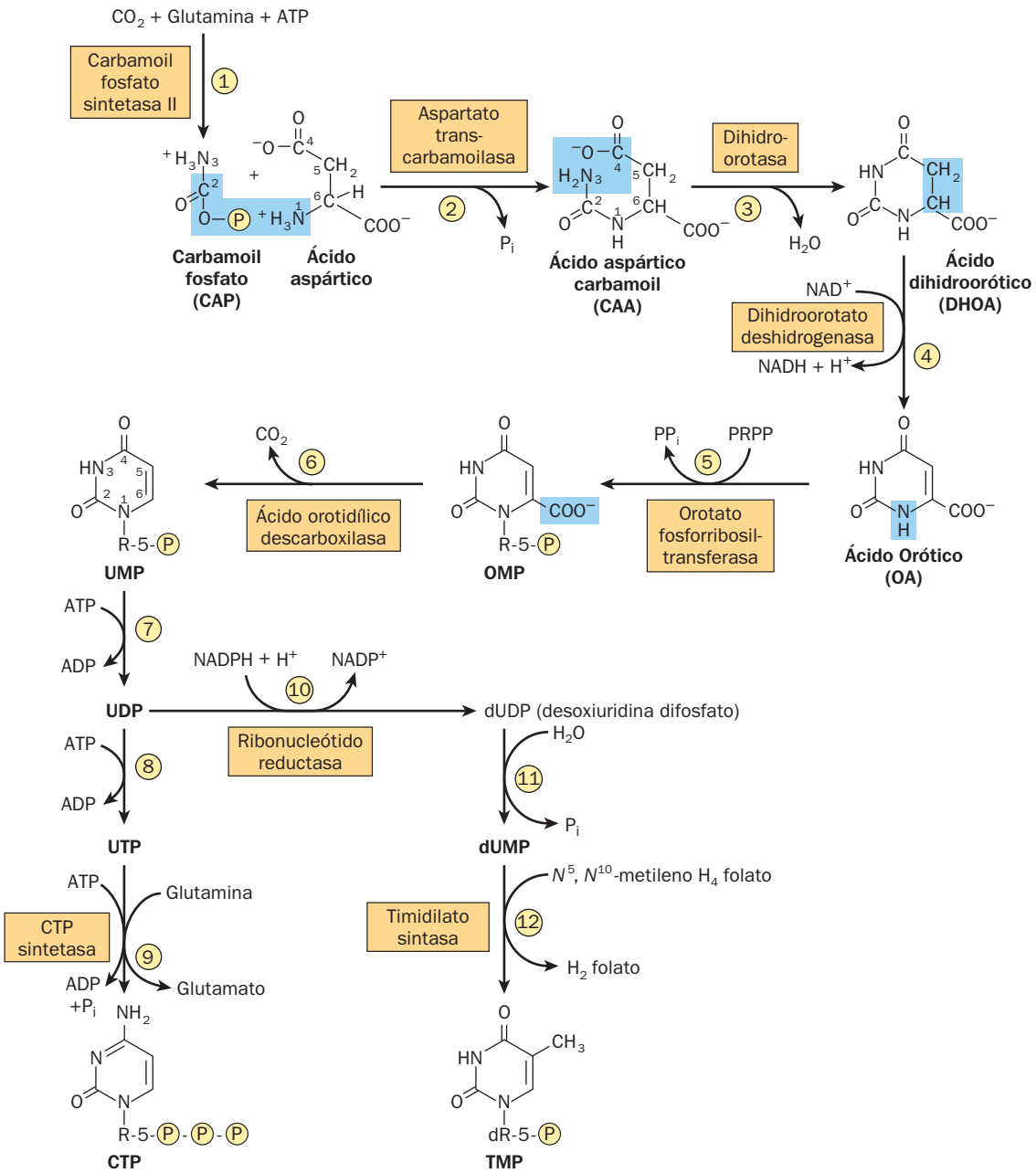


FIGURA 33-9 **La vía biosintética para los nucleótidos de pirimidina.**

polipéptido multifuncional facilita la canalización eficiente de los intermediarios de la biosíntesis de pirimidina.

LOS DESOXIRRIBONUCLEÓSIDOS DE URACILO Y CITOSINA SON SALVADOS

La adenina, la guanina, y la hipoxantina liberados durante la producción de ácidos nucleicos, los notablemente ácidos ribonucleicos (RNAs, *ribonucleic acid*) mensajeros, son reconvertidos en nucleósidos trifosfatos a través de las llamadas **vías de salvamento**. Aunque las células de los mamíferos reutilizan pocas pirimidinas *libres*, las "reacciones de salvamento" convierten los ribonucleó*sidos* de pirimidina, uridina y citidina, y los desoxirribonucleósidos de pirimidina, timidina y desoxicitidina, a su respectivos nucleótidos.

$$\text{Guanina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{GMP} + \text{PP}_i$$
$$\text{Hipoxantina} + \text{PRPP} \rightarrow \text{IMP} + \text{PP}_i$$

Las fosforiltransferasas (quinasas) catalizan la transferencia del grupo γ-fosforilo del ATP al difosfato de los dNDP, 2′-desoxicitidina, 2′-desoxiguanosina y 2′-desoxiadenosina, convirtiéndolos en sus nucleósidos trifosfatos correspondientes.

$$\text{NDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{NTP} + \text{ADP}$$
$$\text{dNDP} + \text{ATP} \rightarrow \text{dNTP} + \text{ADP}$$

El metotrexato bloquea la reducción de dihidrofolato

La reacción catalizada por la timidilato sintasa, EC 2.1.1.45 (reacción ⑫ de la figura 33-9) es la única reacción de la biosíntesis del nucleótido de pirimidina que requiere un derivado tetrahidrofolato. Durante esta reacción, el grupo metileno del N^5, N^{10} metileno-tetrahidrofolato se reduce a grupo metilo, que se transfiere a la posición 5 del anillo de la pirimidina y el tetrahidrofolato se oxida a dihidrofolato. Para que ocurran síntesis posteriores de pirimidina, el dihidrofolato se debe reducir de nuevo a tetrahidrofolato. Esta reducción, catalizada por la dihidrofolato reductasa (EC 1.5.1.3), se inhibe por el **metotrexato**. Las divisiones celulares, que deben generar timidina monofosfato (TMP, *thymidine monophosphate*) y el dihidrofolato, por tanto, son especialmente sensibles a los inhibidores del dihidrofolato reductasa como el fármaco anticancerígeno metotrexato.

Algunos análogos de pirimidina son sustratos para enzimas de la biosíntesis del nucleótido de pirimidina

El **alopurinol** y el fármaco anticancerígeno **5-fluorouracilo** (véase figura 32-13) son sustratos alternativos para la orotato fosforribosiltransferasa, EC 2.4.2.10 (reacción ⑤, figura 33-9). Ambos fármacos son fosforribosilados, y el alopurinol se convierte en un nucleótido en el cual el ribosil fosfato se adjunta al N^1 del anillo de la pirimidina.

REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DEL NUCLEÓTIDO PIRIMIDINA

La expresión de genes y la actividad enzimática están reguladas

La proteína trifuncional (CAD, *trifunctional protein*) representa el punto principal para la regulación de la biosíntesis de la pirimidina. La expresión del gen de la CAD se regula a nivel de la transcripción y de la traducción. A nivel de la actividad de la enzima, la carbamoil fosfato sintetasa II (CPS, *carbamoyl phosphate synthetase*), la actividad del CAD se activa por el PRPP y se inhibe por retroalimentación por el uridina trifosfato (UTP, *uridine triphosphate*). El efecto de UTP es, sin embargo, abolido por la fosforilación de la serina 1406 de la CAD.

La biosíntesis de los nucleótidos de purina y pirimidina está coordinadamente regulada

La purina y la pirimidina se biosintetizan de forma paralela una a la otra cuantitativamente, es decir mol a mol, lo que sugiere un control coordinado de sus biosíntesis. Varios sitios de *regulación cruzada* caracterizan las vías que conducen a la biosíntesis de los nucleótidos de purina y pirimidina. La PRPP sintetasa (reacción ①, figura 33-2), que forma un precursor esencial para ambos procesos, se inhibe por retroalimentación tanto por los nucleótidos de purina como por los de pirimidina, como igual se convierten los nucleótidos de pirimidina y de purina NDP a NTP (**figura 33-10**).

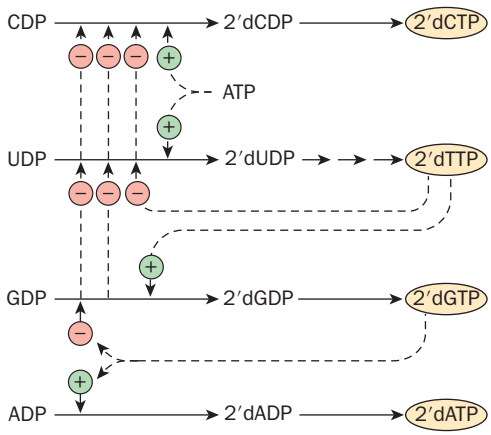


FIGURA 33-10 Regulación de la conversión de los NDP purinas y pirimidina a los NTP. Las líneas sólidas representan el flujo químico. Las líneas discontinuas indican blancos positivos ⊕ o negativos ⊖ de inhibición por retroalimentación.

LOS HUMANOS CATABOLIZAN LAS PURINAS A ÁCIDO ÚRICO

Los humanos convierten la adenosina y la guanosina a ácido úrico (**figura 33-11**). La adenosina se convierte primero a inosina por la adenosina desaminasa, EC 3.5.4.4. En los mamíferos, excepto en los primates superiores, la uricasa (EC 1.7.3.3) convierte al ácido úrico en el producto soluble en agua alantoína. Sin embargo, debido a que los humanos carecen de uricasa, el producto final del catabolismo de la purina en humanos es el ácido úrico.

TRASTORNOS DEL METABOLISMO DE LA PURINA

Varios defectos genéticos en la PRPP sintetasa (reacción ①, figura 33-2) se presentan clínicamente, como la gota. Cada defecto —por ejemplo, una elevada $V_{máx}$, afinidad incrementada por la ribosa 5-fosfato, o resistencia a la inhibición por retroalimentación— resulta en la superproducción y sobreexcreción de los catabolitos de purina. Cuando los niveles de urato en el suero exceden el límite de la solubilidad, el urato de sodio se cristaliza en los tejidos blandos y en las articulaciones y causa una reacción inflamatoria, la **artritis gotosa**. Sin embargo, la mayoría de los casos de gota reflejan trastornos en el manejo renal del ácido úrico.

Aunque los estados de deficiencia de purina son raros en los seres humanos, existen numerosos trastornos genéticos del catabolismo de la purina. Las **hiperuricemias** se pueden diferenciar con base en, si los pacientes excretan cantidades normales o excesivas de uratos totales. Algunas hiperuricemias reflejan defectos de una enzima específica. Otras son secundarias a enfermedades como el cáncer o la psoriasis que aumentan la producción en el tejido.

Síndrome de Lesch-Nyhan

El síndrome Lesch-Nyhan, una superproducción de hiperuricemia caracterizada por episodios frecuentes de litiasis de ácido úrico y un síndrome extraño de automutilación, refleja un defecto en la

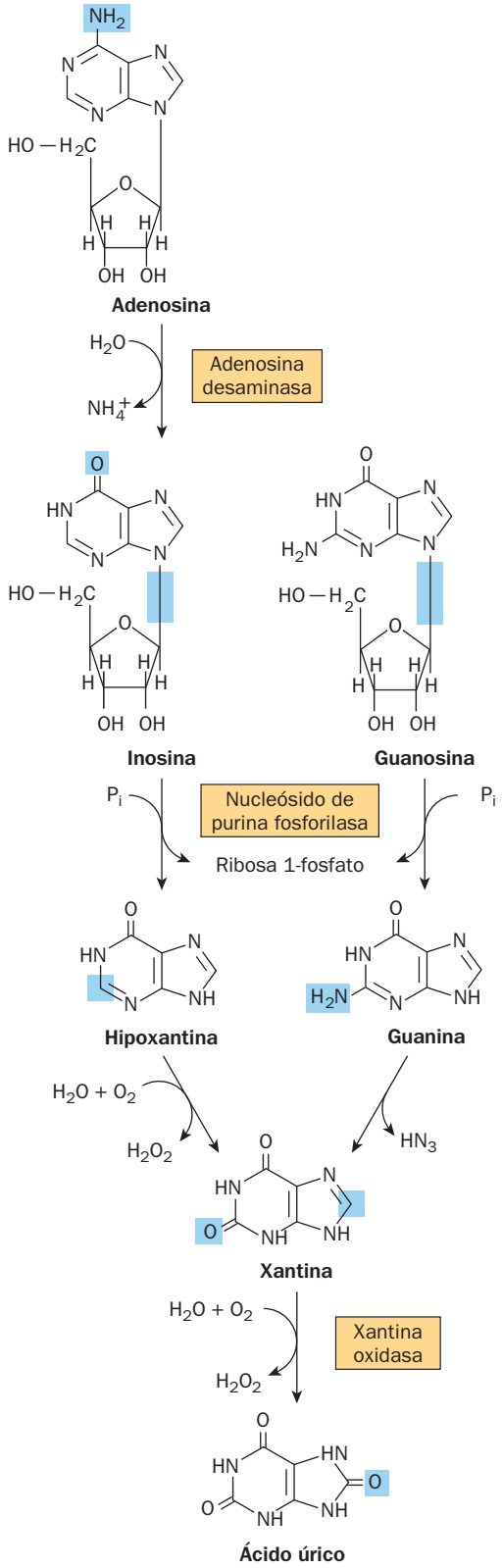


FIGURA 33-11 Formación de ácido úrico a partir de los nucleósidos de purina por la vía de las bases de purina hipoxantina, xantina, y guanina. Los desoxirribonucleósidos de purina son degradados por la misma vía catabólica y enzimas, las cuales existen en la mucosa del tracto gastrointestinal de los mamíferos.

hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, una enzima de salvamento de purina (figura 33-4). La elevación acompañante del PRPP intracelular causa la superproducción de purina. Las mutaciones que disminuyen o anulan la actividad de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa incluyen las deleciones, mutaciones con desplazamiento del marco de lectura, sustituciones de bases y empalme aberrante del mRNA.

Enfermedad de Von Gierke

La superproducción de purina y la hiperuricemia en la enfermedad de Von Gierke (**deficiencia de glucosa-6-fosfatasa)** ocurre secundariamente al aumento de la generación del PRPP precursor de la ribosa 5-fosfato. Una acidosis láctica asociada eleva el umbral renal para el urato, elevándose el urato total del cuerpo.

Hipouricemia

La hipouricemia y un aumento en la excreción de la hipoxantina y la xantina están asociadas con una deficiencia en la **xantina oxidasa**, EC 1.17.3.2 (figura 33-11) debido a un defecto genético o a un severo daño hepático. Los pacientes con una deficiencia severa de la enzima pueden mostrar xantinuria y litiasis xantina.

Deficiencia de la nucleósido de purina fosforilasa y de la adenosina desaminasa

La **deficiencia de la adenosina desaminasa** (figura 33-11) se asocia con una enfermedad de inmunodeficiencia, en la cual los linfocitos derivados del timo (células T) y los linfocitos derivados de la médula ósea(células B) son escasos y disfuncionales. Los pacientes sufren de una inmunodeficiencia severa. En la ausencia de reemplazo de la enzima o trasplante de médula ósea, los niños a menudo sucumben a infecciones fatales. La actividad defectuosa de la **nucleósido de purina fosforilasa** (CE 2.4.2.1) se relaciona con una deficiencia severa de células T, pero aparentemente una función normal de la célula B. Las disfunciones inmunes parecen resultar de la acumulación de dGTP y dATP, que inhiben a la ribonucleótido reductasa y así agotan los precursores celulares de DNA. En el **cuadro 33-1** se resumen los trastornos conocidos del metabolismo de la purina.

LOS CATABOLITOS DE PIRIMIDINA SON SOLUBLES EN AGUA

A diferencia de la baja solubilidad de los productos del catabolismo de la purina, el catabolismo de las pirimidinas forma productos muy solubles en agua –CO_2, NH_3, β-alanina, y β-aminoisobutirato (**figura 33-12**). La excreción de β-aminoisobutirato aumenta en la leucemia y en la exposición severa a radiaciones de rayos X debido al aumento de la destrucción del DNA. Sin embargo, muchas personas de ascendencia china o japonesa rutinariamente excretan β-aminoisobutirato.

Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y el β-aminoisobutirato surgen de defectos en enzimas del catabolismo de la pirimidina. Éstos incluyen la **aciduria β-hidroxibutírica**, un desorden debido a la deficiencia total o parcial de la enzima **dihidropirimidina deshidrogenasa**, EC 1.3.1.2 (figura 33-12). La enfermedad genética refleja una ausencia de la enzima. Un trastorno del catabolismo de pirimidina, conocido también como uraciluria-timi-

CUADRO 33-1 Trastornos metabólicos del metabolismo de la purina y la pirimidina

Enzima defectuosa	Número de catálogo de la enzima	Referencia OMIM	Principales signos y síntomas	Número de figura y reacción
Metabolismo de la purina				
Hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa	2.4.2.8	308000	Síndrome Lesch- Nyhan. Uricemia, automutilación	33-4 ②
PRPP sintasa	2.7.6.1	311860	Gota; artritis gotosa	33-2 ①
Adenosina desaminasa	3.5.4.6	102700	Severamente comprometido el sistema inmune	33-1 ①
Nucleósido de purina fosforilasa	2.4.2.1	164050	Trastornos autoinmunes; infecciones benignas y oportunistas	33-11 ②
Metabolismo de la pirimidina				
Dihidropirimidina deshidrogenasa	1.3.1.2	274270	Puede desarrollarse toxicidad al 5-fluorouracilo, que también es un sustrato para esta deshidrogenasa	33-12 ②
Orotato fosforribosil transferasa y ácido orotidílico descarboxilasa	2.4.2.10 y 4.1.1.23	258900	Aciduria de ácido orótico tipo 1; anemia megaloblástica	33-9 ⑤ y ⑥
Ácido orotidílico descarboxilasa	4.1.1.23	258920	Aciduria de ácido orótico tipo 2	33-9 ⑥

nuria combinada, también es un desorden del metabolismo del aminoácido β, debido a que la *formación* de β-alanina y de β-aminoisobutirato se afecta. Cuando es causada por un error genético, existen serias complicaciones neurológicas. Una forma no genética se provoca por la administración del fármaco contra el cáncer 5-fluorouracilo (véase figura 32-13) a pacientes con niveles bajos de dihidropirimidina deshidrogenasa.

La pseudouridina se excreta sin cambios

Ninguna enzima humana cataliza la hidrólisis o fosforólisis de la pseudouridina (ψ) derivada de la degradación de las moléculas del RNA. Este nucleótido es inusual, por tanto se excreta sin cambios en la orina de sujetos normales. La pseudouridina fue, de hecho, aislada primero de la orina humana (**figura 33-13**).

LA SUPERPRODUCCIÓN DE CATABOLITOS DEPIRIMIDINA

Debido a que los productos finales del catabolismo de la pirimidina son muy solubles en agua, la superproducción de pirimidina causa pocos signos o síntomas clínicos. En el cuadro 33-1 se listan las excepciones. En la hiperuricemia asociada con la severa superproducción de PRPP, existe una superproducción de nucleótidos de pirimidina y un aumento de la excreción de β-alanina. Debido a que el N^5, N^{10}-metileno-tetrahidrofolato se requiere para la síntesis de timidilato, los desórdenes del metabolismo del folato y de la vitamina B_{12} causan deficiencias de TMP.

Aciduria orótica

La aciduria orótica que acompaña el **síndrome de Reye** probablemente es una consecuencia de la incapacidad de la mitocondria dañada severamente de utilizar el fosfato carbamoil, el que entonces se hace disponible para la superproducción citosólica de ácido orótico. La **aciduria orótica tipo I** refleja una deficiencia de orotato fosforribosiltransferasa (EC 2.1.3.3) y de orotidilato descarboxilasa, EC 4.1.1.23 (reacciones ⑤ y ⑥, figura 33-9). La rara **aciduria orótica tipo II** se debe a una deficiencia sólo de orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9).

La deficiencia de una enzima del ciclo de la urea causa excreción de los precursores de la pirimidina

EL aumento de la excreción de ácido orótico, uracilo, y uridina acompañan a una deficiencia en la ornitina transcarbamoilasa mitocondrial hepática (véase reacción ②, figura 28-16). El exceso de carbamoil fosfato sale al citosol, donde estimula la biosíntesis del nucleótido de pirimidina. La **aciduria orótica** leve que resulta se incrementa por alimentos con nitrógeno alto.

Los fármacos pueden precipitar la aciduria orótica

El **alopurinol** (véase figura 32-13), un sustrato alternativo para la orotato fosforribosiltransferasa (reacción ⑤, figura 33-9), compite con el ácido orótico. El producto nucleótido resultante también inhibe la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9), resultando en la **aciduria orótica** y **orotidinuria**. La 6-azauridina, luego de la conversión a 6-azauridilato, también inhibe competitivamente la orotidilato descarboxilasa (reacción ⑥, figura 33-9), incrementando la excreción de ácido orótico y orotidina. Se han identificado cuatro genes que codifican los transportadores de urato. Dos de las proteínas codificadas se localizan en la membrana apical de las células tubulares proximales.

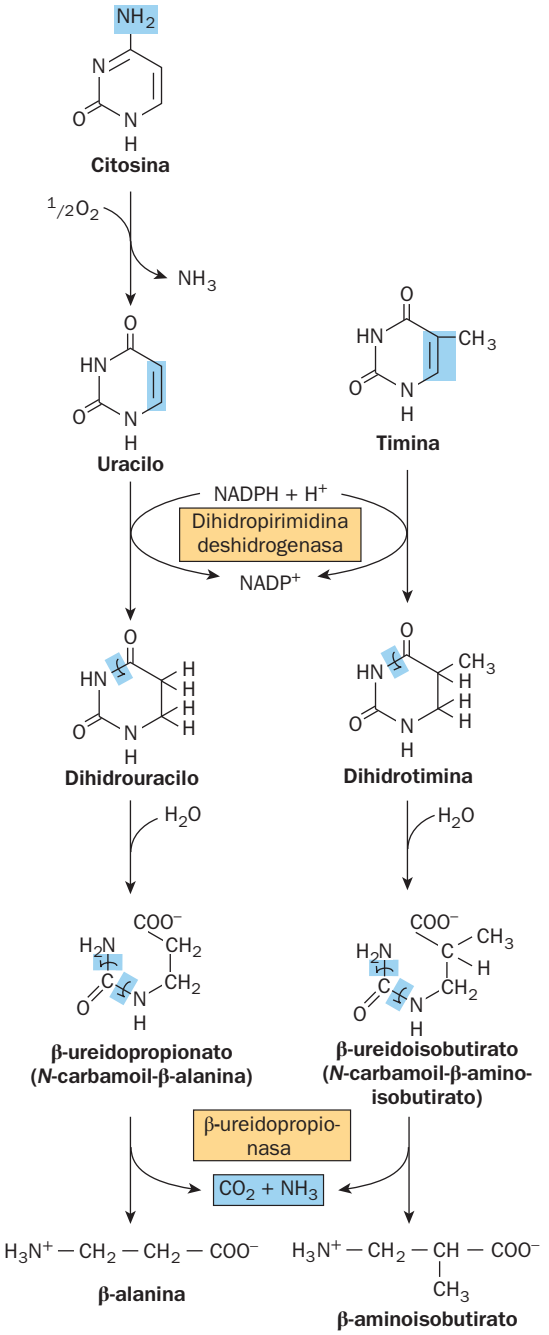


FIGURA 33-12 **Catabolismo de las pirimidinas.** β-ureidopropionasa hepática cataliza la formación tanto de β-alanina como de β-aminoisobutirato a partir de sus precursores de pirimidina.

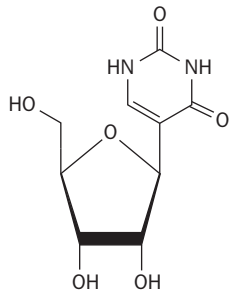


FIGURA 33-13 **Pseudouridina en la cual la ribosa se une al C5 de la uridina.**

RESUMEN

- Los ácidos nucleicos ingeridos se degradan a purinas y pirimidinas. Las purinas y las pirimidinas se forman de intermediarios anfibólicos, y por tanto, no son esenciales en la dieta.
- Varias reacciones de la biosíntesis de IMP requieren derivados de folato y glutamina. Por consiguiente, los medicamentos antifolato y los análogos de la glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- El IMP es un precursor de AMP y GMP. La glutamina provee el grupo 2-amino del GMP y el aspartato el grupo 6-amino del AMP.
- La transferencia del fosforilo del ATP convierte el AMP y GMP a ADP y GDP. Una segunda transferencia de fosforilo del ATP forma GTP, pero el ADP se convierte en ATP principalmente por la fosforilación oxidativa.
- La biosíntesis del nucleótido de purina hepática se regula estrictamente por la cantidad de PRPP y por la inhibición por retroalimentación de la PRPP glutamil amidotransferasa por AMP y GMP.
- La regulación coordinada de la biosíntesis del nucleótido de purina y de pirimidina asegura su presencia en proporciones apropiadas para la biosíntesis del ácido nucleico y otras necesidades metabólicas.
- Los humanos catabolizan las purinas a ácido úrico (pK_a 5.8), presente como un ácido relativamente insoluble en pH ácido o como su sal de urato de sodio más soluble en un pH cercano a la neutralidad. Los cristales de urato son diagnósticos de la gota. Otros trastornos del catabolismo de la purina incluyen el síndrome Lesch-Nyhan, la enfermedad de Von Gierke y las hipouricemias.
- Debido a que los catabolitos de pirimidina son solubles en agua, su superproducción no causa anormalidades clínicas. La excreción de precursores de pirimidina puede resultar, sin embargo, de una deficiencia de ornitina transcarbamoilasa porque el exceso de carbamoil fosfato está disponible para la biosíntesis de pirimidina.

REFERENCIAS

Brassier A, Ottolenghi C, Boutron A, *et al*. Dihydrolipoamide dehydrogenase deficiency: a still overlooked cause of recurrent acute liver failure and Reye-like syndrome. *Mol Genet Metab* 2013;109:28.

Fu R, Jinnah HA. Genotype-phenotype correlations in Lesch-Nyhan disease: moving beyond the gene. *J Biol Chem* 2012;287:2997.

Fu W, Li Q, Yao J, *et al*. Protein expression of urate transporters in renal tissue of patients with uric acid nephrolithiasis. *Cell Biochem Biophys* 2014;70:449.

Moyer RA, John DS. Acute gout precipitated by total parenteral nutrition. *J Rheumatol* 2003;30:849.

Uehara I, Kimura T, Tanigaki S, *et al*. Paracellular route is the major urate transport pathway across the blood-placental barrier. *Physiol Rep* 2014;20:2.

Wu VC, Huang JW, Hsueh PR, *et al*. Renal hypouricemia is an ominous sign in patients with severe acute respiratory syndrome. *Am J Kidney Dis* 2005;45:88.

CAPÍTULO 34

Estructura y función del ácido nucleico

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comprender la estructura química monomérica y polimérica del material genético, el ácido desoxirribonucleico o DNA (*Deoxyribonucleic Acid*), que se encuentra dentro del núcleo de las células eucariotas.
- Explicar por qué el DNA genómico es de doble cadena y con carga altamente negativa.
- Comprender el esquema de cómo se puede duplicar fielmente la información genética del DNA.
- Describir cómo la información genética del DNA se transcribe o se copia, en una infinidad de formas distintas de ácido ribonucleico (RNA, *ribonucleic acid*).
- Apreciar que una forma de RNA rico en información, el llamado RNA mensajero (mRNA, *messenger RNA*), puede traducirse posteriormente en proteínas, las moléculas que forman las estructuras, las formas y, en última instancia, las funciones de las células individuales, los tejidos y los órganos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El descubrimiento de que la información genética está codificada a lo largo de una molécula polimérica compuesta por sólo cuatro tipos de unidades monoméricas, fue uno de los principales logros científicos del siglo xx. Esta molécula polimérica, el **ácido desoxirribonucleico** (**DNA**), es la base química de la herencia y está organizada en genes, las unidades fundamentales de la información genética. Ha sido dilucidada la vía de información básica, es decir, el DNA, que dirige la síntesis del RNA, la cual a su vez dirige y regula la síntesis de proteínas. Los genes no funcionan de manera autónoma; más bien, su replicación y función están controladas por diversos productos génicos, a menudo en colaboración con componentes de varias vías de transducción de señales. El conocimiento de la estructura y función de los ácidos nucleicos es esencial para comprender la genética y muchos aspectos de la fisiopatología, así como la base genética de la enfermedad.

EL DNA CONTIENE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

La demostración de que el DNA contenía la información genética, fue hecha por primera vez en 1944 en una serie de experimentos por Avery, MacLeod y McCarty. Mostraron que la determinación genética del carácter (tipo) de la cápsula de una bacteria neumocócica específica podría transmitirse a otro de diferente tipo capsular, introduciendo el DNA purificado del anterior neumococo en el último. Estos autores se refirieron al agente (que luego se demostró que era el DNA) que logró el cambio, como "factor transformador". Posteriormente, este tipo de manipulación genética se ha convertido en algo común. Experimentos conceptualmente similares se realizan de forma regular en la actualidad utilizando una variedad de células eucariotas, incluyendo las células humanas y los embriones de mamíferos como receptores y DNA clonado molecularmente como el donante de la información genética.

El DNA contiene cuatro desoxinucleótidos

La naturaleza química de las unidades desoxinucleótidas monoméricas de DNA —**desoxiadenilato**, **desoxiguanilato**, **desoxicitidilato**, y **timidilato**— se describe en el capítulo 32. Estas unidades monoméricas de DNA se mantienen en forma polimérica mediante enlaces 3',5'-fosfodiéster que constituyen una sola cadena, como se representa en la **figura 34-1**. El contenido informacional del DNA (el código genético) reside en la secuencia en que estos monómeros —desoxirribonucleótidos de purina y pirimidina— se ordenan. El polímero como se representa posee una polaridad; un extremo tiene un 5'-hidroxilo o fosfato terminal, mientras que el otro tiene un 3'-fosfato o hidroxilo terminal. La importancia de esta polaridad se hará evidente. Dado que la información genética reside en el orden de las unidades monoméricas dentro de los polímeros, debe existir un mecanismo de reproducción o replicación de esta información específica con un alto grado de fidelidad. Ese requisito, junto con los datos de difracción de rayos X de la molécula del DNA, generada por Franklin, y la observación de Chargaff de que en las moléculas del DNA la concentración de los nucleótidos de desoxiadenosina (A) es igual a la de los nucleótidos de timidina (T) (A = T), mientras que la concentración de los nucleótidos de desoxiguanosina(G) es igual a la de los nucleótidos de desoxicitidina (C) (G = C), condujeron a que Watson, Crick y Wilkins propusieran a principios de la década de 1950 un modelo de una molécula de DNA de

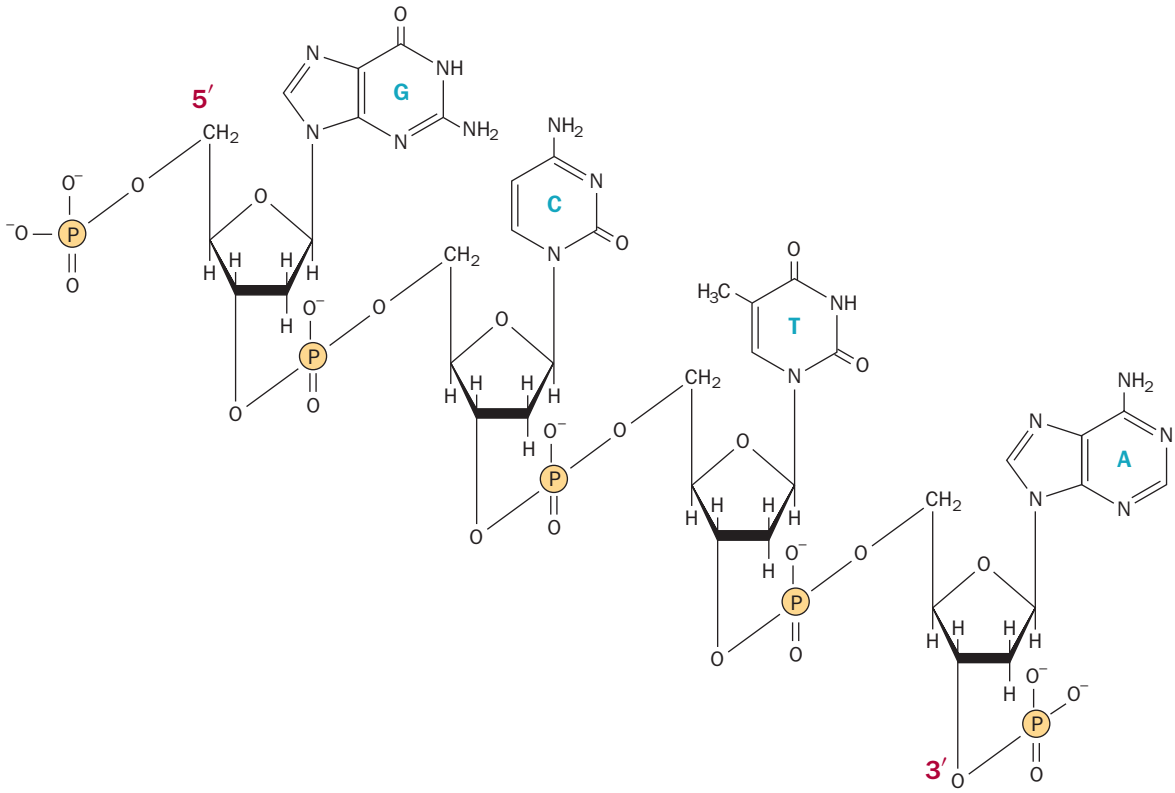


FIGURA 34-1 Un segmento de una cadena de una molécula de DNA, en la que las bases de purina y pirimidina, guanina (G), citosina (C), timina (T) y adenina (A) se mantienen juntas mediante un esqueleto de fosfodiéster entre las partes 2' desoxirribosilo unidas a las nucleobases mediante un enlace *N*-glucosídico. Tenga en cuenta que el esqueleto de fosfodiéster está cargado negativamente y tiene una polaridad (es decir, una dirección). La convención dicta que una secuencia de DNA de cadena simple se escribe en la dirección 5' a 3' (es decir, pGpCpTpAp, donde G, C, T y A representan las cuatro bases y p representa los fosfatos interconectados).

doble cadena. El modelo que propusieron se muestra en la **figura 34-2**. Las dos cadenas de esta hélice de doble cadena se mantienen unidas mediante enlaces de hidrógeno entre las bases de purina y pirimidina de las respectivas moléculas lineales y por interacciones de Van der Waals hidrofóbicas entre los pares de bases adyacentes apiladas. Las coincidencias entre los nucleótidos de purina y pirimidina en las cadenas opuestas son muy específicos y dependen del enlace de hidrógeno de **A con T** y **G con C** (figura 34-2). Los **pares de bases A-T y G-C** a menudo se denominan **pares de bases de Watson-Crick**.

Se dice que esta forma común de DNA es diestra porque cuando uno mira desde arriba hacia abajo de la doble hélice, los residuos de la base forman una espiral en el sentido de las agujas del reloj. En la molécula de doble cadena, las restricciones impuestas por la rotación sobre el enlace fosfodiéster, la favorecida *anti*-configuración del enlace glucosídico (véase figura 32-5) y los tautómeros predominantes (véase figura 32-2) de las cuatro bases (A, G, T y C) permiten que A se empareje sólo con T, y G sólo con C, como se representa en la **figura 34-3**. Estas restricciones de emparejamiento de bases explican la observación anterior de que en una molécula de DNA de cadena doble el contenido de A es igual al de T, y el contenido de G es igual al de C. Las dos cadenas de la molécula de doble hélice, cada una de las cuales posee una **polaridad**, son **antiparalelas**; es decir, una cadena corre en la dirección de 5'a 3' y la otra en la dirección de 3' a 5'. Dentro de un gen particular en las moléculas de DNA de doble cadena, la información genética reside en la secuencia de los nucleótidos en una cadena, la **cadena plantilla**. Esta es la cadena de DNA que se copia, o transcribe, durante la síntesis del **ácido ribonucleico** (**RNA**). A veces se denomina **cadena no codificadora**. La cadena opuesta se considera la **cadena codificadora** porque coincide con la secuencia del RNA transcrito (pero que contiene uracilo en lugar de timina, figura 34-8) que codifica la proteína.

Las dos cadenas, en las que las bases opuestas se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno entre las cadenas, giran alrededor de un eje central en forma de una **doble hélice**. En el tubo de ensayo, el DNA de doble cadena puede existir en al menos seis formas (A-E y Z). Estas diferentes formas del DNA difieren con respecto a las interacciones intra e inter cadenas e implican reordenamientos estructurales dentro de las unidades monoméricas del DNA. La **forma B generalmente se encuentra bajo condiciones fisiológicas**. Un solo giro de la forma B-DNA alrededor del eje largo de la molécula, contiene 10 pares de bases (bp). La distancia que abarca una vuelta de B-DNA es de 3.4 nm (34 Å). El ancho (diámetro helicoidal) de la doble hélice en el B-DNA es de 2 nm (20 Å).

Como se muestra en la figura 34-3, tres enlaces de hidrógeno (véase figura 2-2), formados por hidrógeno unido a átomos electronegativos N u O, unen el nucleótido desoxiguanosina con el nucleótido desoxicitidina, mientras que el otro par, el par A-T, se mantiene unido por dos enlaces de hidrógeno. Obsérvese que las cuatro bases de nucleótidos de DNA, purinas ([dG, dA] y pirimidinas [dT, dC]; véanse figura 32-1 y cuadro 32-1] son planas, moléculas planas. Estas propiedades fundamentales de las bases de

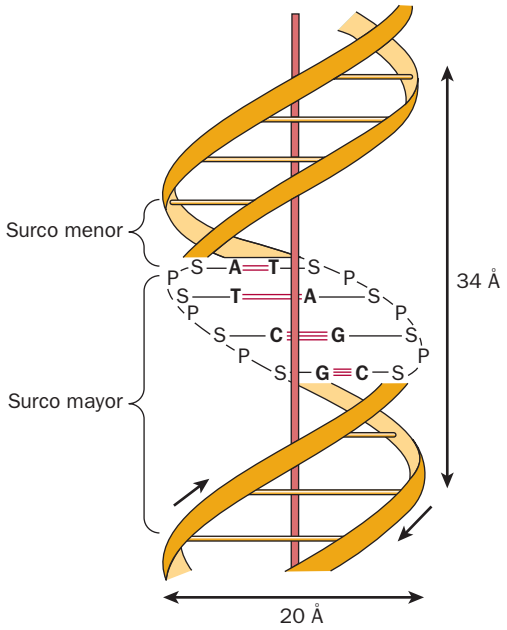


FIGURA 34-2 Una representación diagramática del modelo de Watson y Crick de la estructura de doble hélice de la forma B del DNA. La flecha horizontal indica el ancho de la doble hélice (20 Å), y la flecha vertical indica la distancia que abarca un giro completo de la doble hélice (34 Å). Un giro de B-DNA incluye 10 pares de bases (bp), por lo que el aumento es de 3.4 Å por bp. El eje central de la doble hélice está indicado por la barra vertical. Las flechas cortas designan la polaridad de las cadenas antiparalelas. Se representan las surcos mayor y menor. (A: adenina; C: citosina; G: guanina; P: fosfato; S: azúcar [desoxirribosa]; T: timina). Los enlaces de hidrógeno entre las bases A/T y G/C se indican mediante líneas horizontales cortas, rojas.

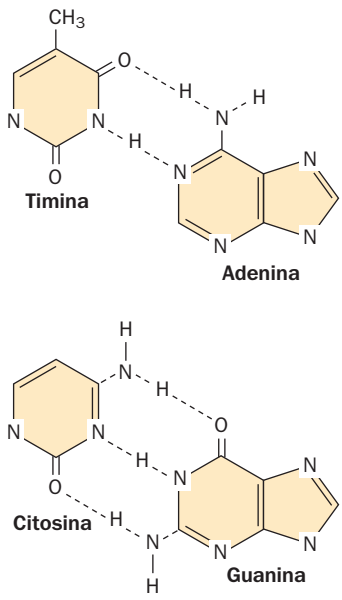


FIGURA 34-3 El emparejamiento clásico de bases del DNA de Watson-Crick entre desoxinucleótidos complementarios implica la formación de enlaces de hidrógeno. Dos de tales enlaces H se forman entre la adenina y la timina, y se forman tres enlaces H entre la citidina y la guanina. Las líneas discontinuas representan los enlaces H.

nucleótidos les permiten apilarse estrechamente dentro del DNA doble (figura 34-2). Los átomos dentro de las bases heterocíclicas aromáticas son altamente polarizables, y, junto con el hecho de que muchos de los átomos dentro de las bases contienen cargas parciales, permite que las bases apiladas formen las interacciones electroestáticas y Van der Waals. Estas fuerzas se conocen colectivamente como fuerzas o interacciones de apilamiento de bases. Las interacciones de apilamiento de bases entre pares de bases adyacentes G-C (o C-G) son más fuertes que los pares de bases A-T (o T-A). Por tanto, las secuencias de DNA rico en G-C son más resistentes a la desnaturalización, o separación de cadenas, denominadas "fusión", que las regiones de DNA ricos en A-T.

La desnaturalización del DNA se usa para analizar su estructura

La estructura de doble cadena del DNA se puede separar en dos cadenas componentes en solución, incrementando la temperatura o disminuyendo la concentración de sal. Las dos pilas de bases no sólo se separan, sino que las bases mismas se desapilan mientras están aún conectadas con el polímero por el esqueleto de fosfodiéster. Concomitante con la desnaturalización de la molécula de DNA, está el aumento en la absorbancia óptica de las bases de purina y pirimidina, un fenómeno denominado **hipercromicidad** de desnaturalización. Debido al apilamiento de las bases y el enlace de hidrógeno entre las pilas, la doble molécula de DNA exhibe propiedades de una varilla rígida, y en solución es un material viscoso que pierde su viscosidad tras la desnaturalización.

Las cadenas de una molécula de DNA dada se separan en un rango de temperatura. El punto medio se llama **temperatura de fusión**, o T_m. La T_m está influenciada por la composición de base del DNA y por la concentración de sal (u otros solutos, véase a continuación) de la solución. El DNA rico en pares G-C, que tienen tres enlaces de hidrógeno, se funde a una temperatura más alta que el DNA rico en pares A-T, que tienen dos enlaces de hidrógeno. Un aumento de 10 veces la concentración de catión monovalente aumenta la T_m en 16.6 °C al neutralizar la repulsión intercadena intrínseca entre los fosfatos con carga altamente negativa del esqueleto de fosfodiéster. Por el contrario, el solvente orgánico formamida, que se usa comúnmente en experimentos de DNA recombinante, desestabiliza el enlace de hidrógeno entre las bases, disminuyendo así la T_m. Además, la formamida permite que las cadenas de DNA o los híbridos DNA-RNA se separen a temperaturas mucho más bajas y minimiza la ruptura del enlace fosfodiéster y el daño químico a los nucleótidos, que pueden ocurrir tras la incubación prolongada a temperaturas más altas.

La renaturalización del DNA requiere el emparejamiento de pares de bases

Es importante destacar que las cadenas separadas de DNA se renaturalizarán o reasociarán, cuando se alcancen las condiciones fisiológicas apropiadas de temperatura y sal; este proceso de reasociación a menudo se denomina **hibridación**. La tasa de reasociación depende de la concentración de las cadenas complementarias. La reasociación de las dos cadenas complementarias del DNA de un cromosoma después de la transcripción, es un ejemplo fisiológico de renaturalización (véase a continuación). A una temperatura y concentración de sal dadas, una cadena particular de ácido nucleico se asociará estrechamente sólo con una cadena complementa-

ria. Las moléculas híbridas también se formarán en condiciones apropiadas. Por ejemplo, el DNA formará un híbrido con un DNA complementario (cDNA, *complemetary DNA*) o con un RNA complementario afin (p. ej., mRNA, véase a continuación). Cuando la hibridación se combina con técnicas de electroforesis en gel que separan los ácidos nucleicos por tamaño, junto con el marcaje de sonda complementaria radiactiva o fluorescente para proporcionar una señal detectable, las técnicas analíticas resultantes se denominan **electrotransferencia Southern (DNA/DNA) y Northern (RNA-DNA)**, respectivamente. Estos procedimientos permiten la identificación muy clara y de alta sensibilidad de especies de ácidos nucleicos específicas a partir de mezclas complejas de DNA o RNA (véase capítulo 39).

Existen surcos en la molécula del DNA

El análisis del modelo representado en la figura 34-2 revela un **surco mayor** y un **surco menor** enrollado a lo largo de la molécula paralela a los esqueletos de fosfodiéster. En estos surcos, las proteínas a menudo interactúan específicamente con los átomos expuestos de los nucleótidos (a través de interacciones hidrófobas e iónicas específicas), reconociendo y uniéndose así a secuencias de nucleótidos específicas, así como a las formas únicas formadas a partir de ellas. La unión generalmente ocurre sin interrumpir el emparejamiento de bases de la molécula de DNA de doble hélice. Como se discutió en los capítulos 35, 36 y 38, las proteínas reguladoras que controlan la replicación, reparación y recombinación del DNA, así como la transcripción de genes específicos ocurren a través de tales interacciones proteína-DNA.

El DNA existe en formas relajadas y superenrolladas.

En algunos organismos, como bacterias, bacteriófagos, muchos virus de animales que contienen DNA, así como en organelos como las mitocondrias (véase figura 35-8), los extremos de las moléculas de DNA se unen para crear un círculo cerrado con extremos no covalentemente libres. Esto, por supuesto, no destruye la polaridad de las moléculas, pero elimina todos los grupos fosforilo e hidroxilo 3' y 5' libres. Los círculos cerrados existen en formas relajadas o superenrolladas. Las superenrolladas se presentan cuando un círculo cerrado se retuerce alrededor de su propio eje, o cuando una pieza lineal de DNA doble, cuyos extremos son fijos, se tuerce. Este proceso que requiere energía pone a la molécula bajo tensión de torsión, y cuanto mayor es el número de superenrollados, mayor es el estrés o la torsión (prueba esto al retorcer una goma elástica). Los **superenrollados negativos** se forman cuando la molécula se tuerce en la dirección opuesta al sentido de las agujas del reloj de la doble hélice derecha que se encuentra en el B-DNA. Se dice que dicho DNA está infraenrollado. La energía requerida para lograr este estado está, en cierto sentido, almacenada en los superenrollados. La transición a otra forma que requiere energía se ve facilitada por el infraenrollamiento (véase figura 35-19). Una de esas transiciones es la separación de cadenas, que es un requisito previo para la replicación y la transcripción del DNA. El DNA superenrollado es por tanto una forma preferida en los sistemas biológicos. Las enzimas que catalizan los cambios topológicos del DNA se denominan **topoisomerasas**. Las topoisomerasas pueden relajar o insertar superenrollados, usando ATP como una fuente de energía. Los homólogos de esta enzima existen en todos los organismos y son blancos importantes para la quimioterapia contra el cáncer. Los superenrollados también pueden formarse dentro de los DNA lineales, si segmentos particulares de DNA son forzados a interactuar estrechamente con proteínas nucleares que establecen dos sitios límites que definen un dominio topológico.

EL DNA PROPORCIONA UNA PLANTILLA PARA LA REPLICACIÓN Y LA TRANSCRIPCIÓN

La información genética almacenada en la secuencia de nucleótidos del DNA tiene dos propósitos. Es la fuente de información para la síntesis de todas las moléculas de las proteínas de la célula y el organismo, y proporciona la información heredada por las células hijas o la descendencia. Ambas de estas funciones requieren que la molécula de DNA sirva como plantilla, en el primer caso para la transcripción de la información en RNA y en el segundo caso para la replicación de la información en moléculas de DNA hijas.

Cuando cada cadena de la molécula de DNA de doble cadena original se separa de su complemento durante la replicación, cada una sirve independientemente como una plantilla sobre el que se sintetiza una nueva cadena complementaria (**figura 34-4**). Las dos moléculas hijas de DNA de doble cadena recién formadas, cada una con una cadena (pero complementaria más que idéntica) a partir de la molécula de DNA de doble cadena original, son divididas entre las dos células hijas durante la mitosis (**figura 34-5**). Cada célula hija contiene moléculas de DNA con información idéntica a la que poseía la original; sin embargo, en cada célula hija, la molécula de DNA de la célula original ha sido sólo semiconservada.

LA NATURALEZA QUÍMICA DEL RNA DIFIERE DE LA DEL DNA

El RNA es un polímero de ribonucleótidos de purina y pirimidina unidos por enlaces 3',5'-fosfodiéster análogos a los del DNA (**figura 34-6**). Aunque comparte muchas características con el DNA, el RNA posee varias diferencias específicas:

1. En el RNA, la parte del azúcar al que están unidos los fosfatos y las bases de purina y pirimidina es la ribosa en lugar de la 2'-desoxirribosa del DNA (véanse figuras 19-2 y 32-3).

2. Los componentes de pirimidina del RNA pueden diferir de los del DNA. Aunque el RNA contiene los ribonucleótidos de adenina, guanina y citosina, no posee timina, excepto en el raro caso mencionado a continuación. En lugar de timina, el RNA contiene el ribonucleótido de uracilo.

3. El RNA típicamente existe como una sola cadena, mientras que el DNA existe como una molécula helicoidal de doble cadena. Sin embargo, dada la adecuada secuencia de bases complementarias con polaridad opuesta, la única cadena de RNA —como se muestra en las **figuras 34-7** y **34-11**— es capaz de replegarse sobre sí misma como una horquilla y así adquirir características de doble cadena: emparejándose G con C y A con U.

4. Dado que la molécula de RNA es una cadena única complementaria de sólo una de las dos cadenas de un gen, su contenido de guanina no es necesariamente igual a su contenido de

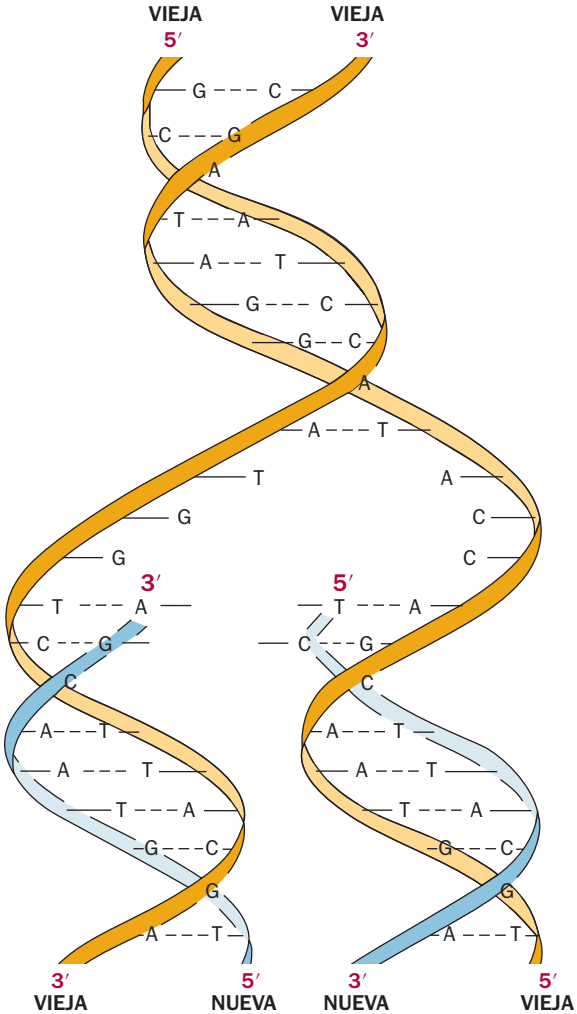


FIGURA 34-4 La síntesis del DNA mantiene la secuencia y la estructura del modelo original del DNA. La estructura del DNA de cadena doble y la función de una plantilla de cada cadena parental vieja (naranja) sobre la que se sintetiza una nueva cadena hija complementaria (azul).

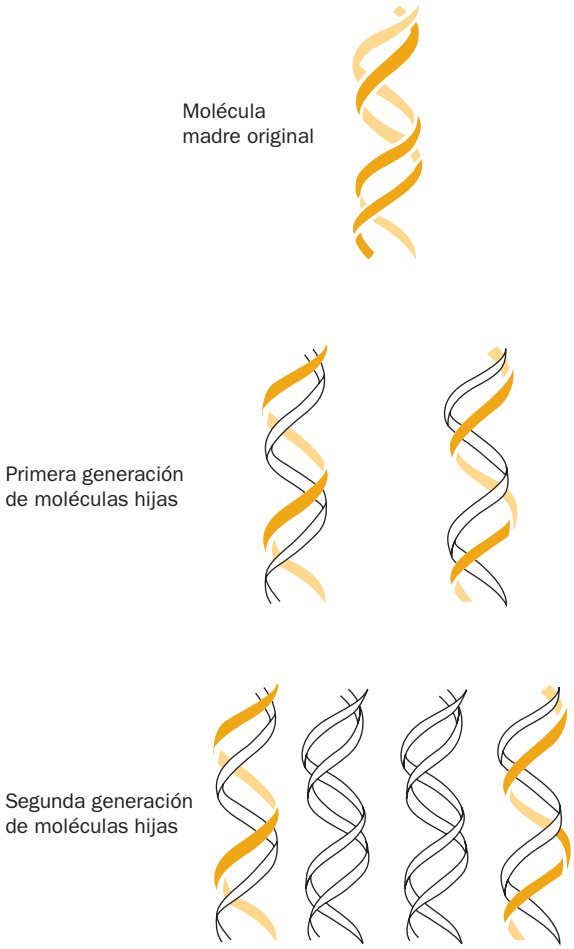


FIGURA 34-5 La replicación del DNA es semiconservativa. Durante una ronda de replicación, cada una de las dos cadenas del DNA se usa como una plantilla para la síntesis de una nueva cadena complementaria. La naturaleza semiconservativa de la replicación del DNA tiene implicaciones para el control bioquímico (véase figura 35-16), citogenético (véase figura 35-2) y epigenético de la expresión génica (véanse figuras 38-8 y 38-9).

citosina, ni su contenido de adenina es necesariamente igual a su contenido de uracilo.

5. El RNA se puede hidrolizar mediante álcali a diésteres cíclicos 2', 3' de los mononucleótidos, compuestos que no pueden formarse a partir del DNA tratado con el álcali debido a la ausencia de un grupo 2'-hidroxilo. La labilidad alcalina del RNA es útil tanto diagnóstica como analíticamente.

La información dentro de la única cadena de RNA está contenida en su secuencia ("estructura primaria") de nucleótidos de purina y pirimidina dentro del polímero. La secuencia es complementaria a la cadena plantilla del gen del cual fue transcrito. Debido a esta complementariedad, una molécula de RNA puede unirse específicamente mediante las reglas de emparejamiento de bases a su cadena de DNA plantilla (**A**-T, **G**-C, **C**-G, **U**-A, la base de RNA en negrita); no se unirá ("hibridará") con la otra cadena (codificadora) de su gen. La secuencia de la molécula de RNA (excepto para U que reemplaza a T) es la misma que la de la cadena codificadora del gen (**figura 34-8**).

CASI TODAS LAS VARIADAS ESPECIES DE RNA ABUNDANTES ESTABLES ESTÁN INVOLUCRADAS EN ALGUNOS ASPECTOS DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA

Aquellas moléculas de RNA citoplasmáticas que sirven como unas plantillas para la síntesis de proteínas (es decir, que transfieren información genética desde el DNA a la maquinaria que sintetiza proteínas) se denominan **RNAs mensajeros** (**mRNAs**). Muchas otras moléculas de RNA citoplasmático muy abundantes (**RNA ribosómico** [**rRNAs**, *ribosomal RNA*]) tienen roles estructurales que

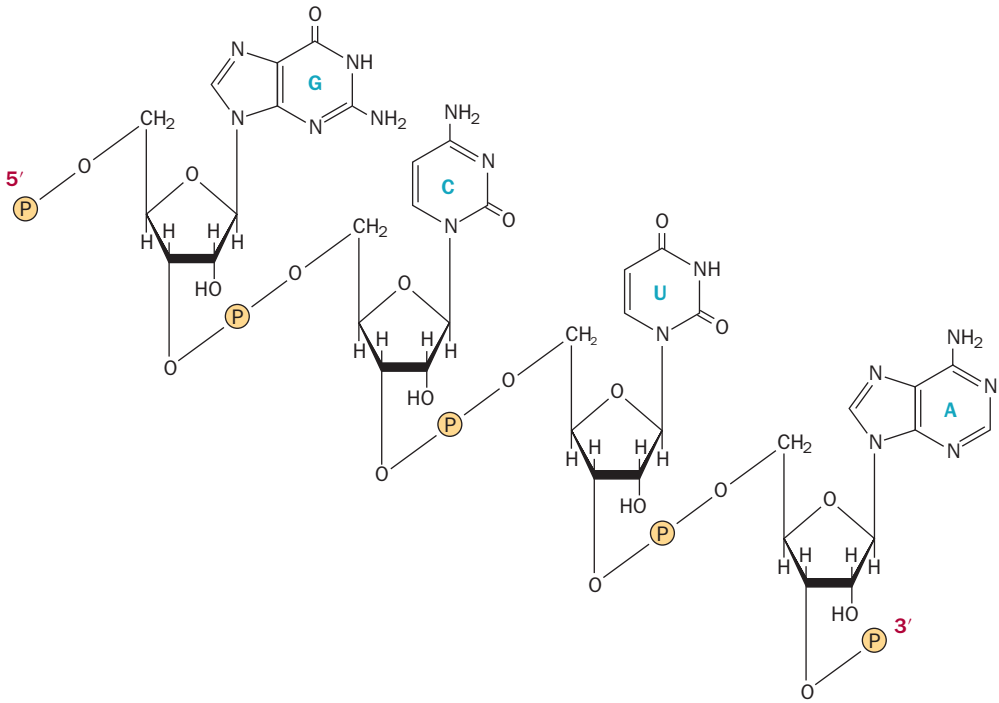


FIGURA 34-6 Un segmento de una molécula de ácido ribonucleico (RNA), en la cual las bases de la purina y la pirimidina —guanina (G), citosina (C), uracilo (U), y adenina (A)— se apoyan juntas por los enlaces de fosfodiéster entre las partes deribosil unidos a las nucleobases por enlaces *N*-glucosídico. Nótese que la(s) carga(s) negativa(s) en el esqueleto fosfodiéster no están ilustradas (es decir, figura 34-1) y que el polímero tiene una polaridad como se indica por los fosfatos unidos a 3′ y 5′ etiquetados.

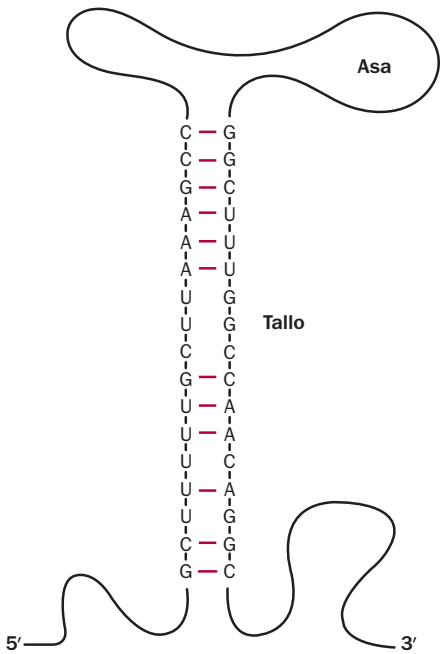


FIGURA 34-7 Representación diagramática de la estructura secundaria de una molécula de RNA de cadena simple, en la cual un tallo con asa, u "horquilla," ha sido formada. La formación de esta estructura es dependiente de la pareja base intramolecular indicada (las bases coloreadas entre líneas horizontales). Nótese que el par G con C es como en el DNA, pero en el RNA el par A se empareja con U a través de los enlaces de hidrógeno.

contribuyen a la formación y función de los ribosomas (el organelo maquinaria para la síntesis de proteínas) o sirven como moléculas adaptadoras (**RNA de transferencia** [**tRNAs**, *transfer RNA*]) para la traducción de información de RNA en secuencias específicas de aminoácidos polimerizados.

Curiosamente, algunas moléculas de RNA tienen actividad catalítica intrínseca. La actividad de estas enzimas de RNA, o **ribozimas**, a menudo implica la escisión de un ácido nucleico. Dos ribozimas son, la peptidil transferasa que cataliza la formación del enlace peptídico en el ribosoma, y las ribozimas implicadas en el empalme del RNA.

En todas las células eucariotas, hay especies **nucleares pequeñas de RNA** (**snRNA**, *small nuclear RNA*) que no están directamente involucradas en la síntesis de proteínas, pero desempeñan una función fundamental en el procesamiento del RNA, particularmente en el procesamiento del mRNA. Estas moléculas relativamente pequeñas varían en tamaño desde 90 hasta aproximadamente 300 nucleótidos (cuadro 34-1). Las propiedades de las diversas clases de RNA celulares se detallan a continuación.

El material genético para algunos virus de animales y vegetales es el RNA en lugar del DNA. Aunque algunos virus de RNA nunca transcriben su información en una molécula de DNA, muchos virus de RNA en los animales –específicamente, los retrovirus (p. ej., el de la inmunodeficiencia humana, o virus (HIV, *human immunodeficiency virus*), se transcriben por la **DNA polimerasa dependiente de RNA viral**, **la llamada transcriptasa inversa**, para producir una copia de DNA de doble cadena de su genoma de RNA. En muchos casos, la transcripción de DNA de doble cadena resultante se integra en el genoma del huésped y, posteriormente, sirve como una plantilla para la expresión génica y a partir del cual se pueden transcribir nuevos genomas de RNA viral y mRNA virales. La in-

FIGURA 34-8 La relación entre las secuencias de un RNA transcrito y su gen, en el que las cadenas de codificación y modelo se muestran con sus polaridades. El RNA transcrito con una polaridad de 5' a 3' es complementario a la cadena plantilla con su polaridad de 3' a 5'. Tenga en cuenta que la secuencia en la transcripción de RNA y su polaridad es la misma que en la cadena de codificación, excepto que la U de la transcripción reemplaza la T del gen; el nucleótido iniciador de los RNA contiene un terminal 5-trifosfato (es decir, pppA-arriba).

serción genómica de tal integración de moléculas de DNA "províricas", dependiendo del sitio involucrado pueden ser mutagénicas, inactivar un gen o desregular su expresión (véase figura 35-11).

EXISTEN VARIAS CLASES DISTINTAS DE RNA

Como se señaló anteriormente, en todos los organismos procariotas y eucariotas, existen cuatro clases principales de moléculas de RNA: mRNA, tRNA, rRNA, y pequeños RNA. Cada uno difiere de los demás por la abundancia, tamaño, función y estabilidad general.

RNA mensajero

Esta clase es la más heterogénea en abundancia, tamaño y estabilidad; por ejemplo, en la levadura de la cerveza, los mRNA específicos están presentes en 100 s/célula, en promedio, ≤0.1/mRNA/célula en una población genéticamente homogénea. Como se detalla en los capítulos 36 y 38, los mecanismos transcripcionales y postranscripcionales específicos contribuyen a este amplio rango dinámico en el contenido del mRNA. En las células de los mamíferos, la abundancia específica de mRNA probablemente varía en un rango de 10^4 veces. Todos los miembros de esta clase de RNA funcionan como mensajeros que transmiten la información en un gen a la maquinaria sintetizadora de proteínas, donde cada mRNA sirve como una plantilla sobre el que se polimeriza una secuencia específica de aminoácidos para formar una molécula de proteína específica, el producto génico final (**figura 34-9**).

Los mRNA eucarióticos tienen características químicas únicas. El terminal 5' del mRNA es "cubierto" por un 7-metilguanosina trifosfato que está unido a un 2'-*O*-metil ribonucleósido adyacente a su 5'-hidroxilo a través de tres fosfatos (**figura 34-10**). Las moléculas de mRNA con frecuencia contienen 6-metiladenina interna y otros nucleótidos metilados 2'-*O*-ribosa. La cubierta está involucrada en el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción, y también ayuda a estabilizar el mRNA al prevenir el ataque nucleolítico por la 5'-exorribonucleasas. La maquinaria sintetizadora de proteínas empieza a traducir al mRNA en proteínas comenzando corriente abajo del terminal 5' o casquetado. En el otro extremo de casi todas las moléculas de mRNA en eucariotas, el terminal 3'-hidroxilo tiene un adjunto, un polímero de residuos de adenilato de 20 a 250 nucleótidos de longitud no genéticamente codificado. La "cola" poli (A) en el terminal 3' de los mRNA mantiene la estabilidad intracelular del mRNA específico evitando el ataque de las 3'-exorribonucleasas y también facilita la traducción (véase figura 37-7). Tanto la cubierta como la "cola poli (A)" se añaden después

CUADRO 34-1 Algunas de las especies de RNA pequeños y estables que se encuentran en las células de los mamíferos

Nombre	Longitud (nucleótidos)	Moléculas por células	Localización
U1	165	1×10^6	Nucleoplasma
U2	188	5×10^5	Nucleoplasma
U3	216	3×10^5	Nucléolo
U4	139	1×10^5	Nucleoplasma
U5	118	2×10^5	Nucleoplasma
U6	106	3×10^5	Gránulos de pericromatina
4.5S	95	3×10^5	Núcleo y citoplasma
7SK	280	5×10^5	Núcleo y citoplasma

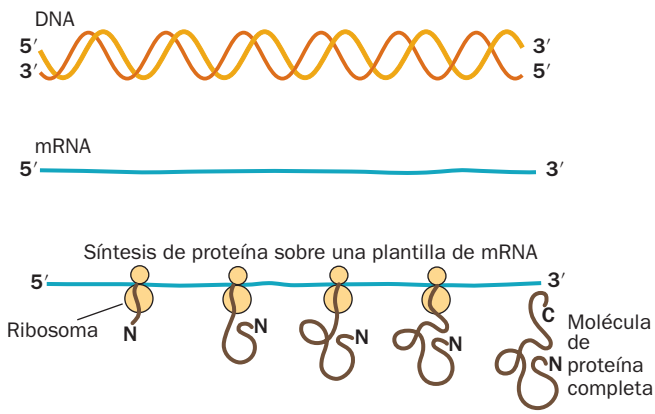


FIGURA 34-9 Se muestra la expresión de información genética dentro del DNA en la forma de un transcrito de mRNA con una polaridad de 5' a 3' y luego en una proteína con polaridad de N a C. El DNA se transcribe en mRNA que posteriormente se traduce por los ribosomas en una molécula de proteína específica que exhibe polaridad, N-terminal (N) a C-terminal (C).

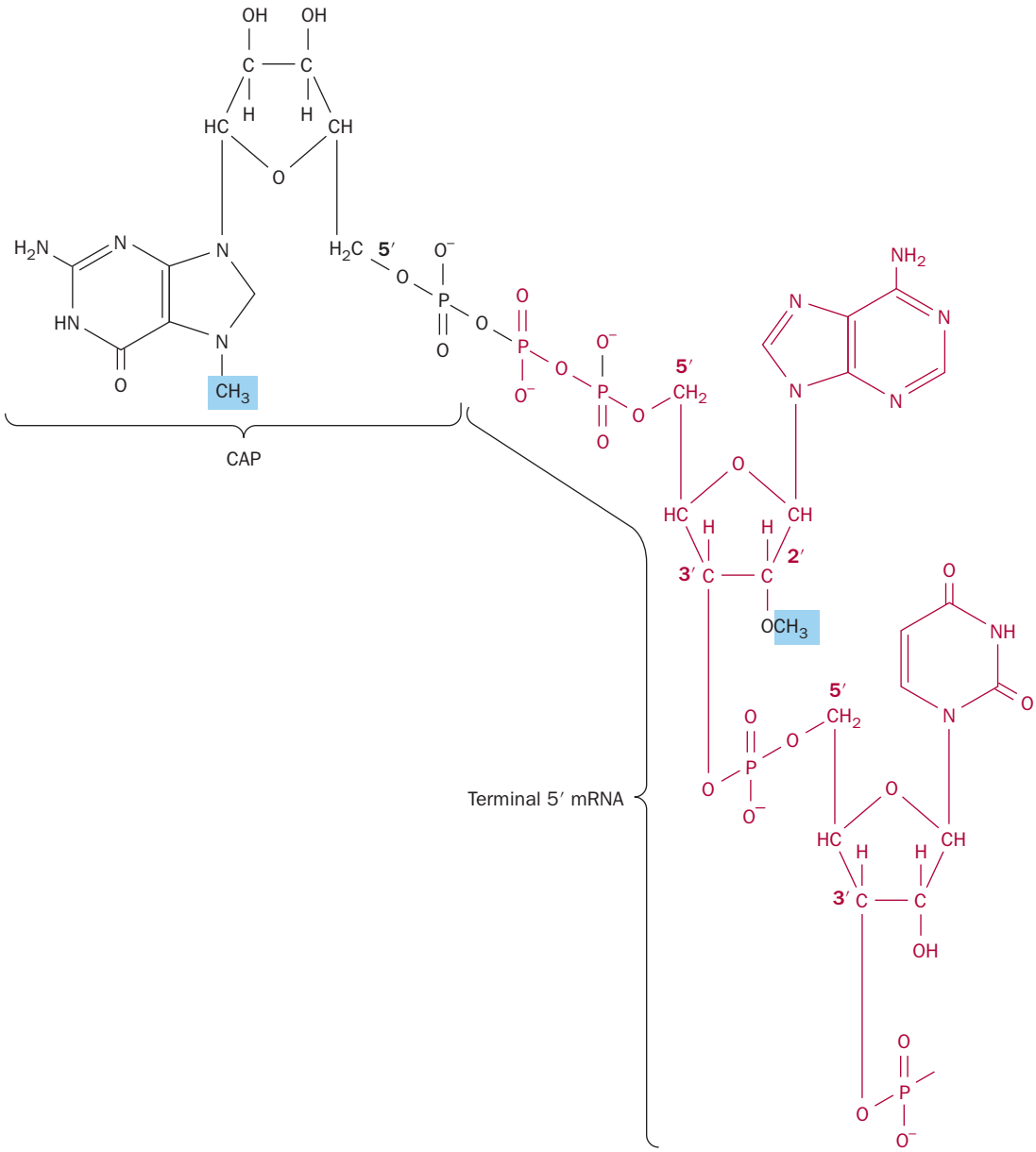


FIGURA 34-10 La estructura de la cubierta fija unida al terminal 5' de la mayoría de las moléculas de RNA mensajero eucariotas. Una 7-metilguanosina trifosfato (negro) se une en el extremo 5' del mRNA (rojo), que generalmente también contiene un nucleótido 2'-*O*-metilpurina. Estas modificaciones (la cubierta y el grupo metilo) se agregan después de que el mRNA se transcribe a partir del DNA. Nótese que los γ y β fosfatos del GTP (*guanosine triphosphate*): trifosfato de guanosina, añadido para formar la cubierta (negra en la figura) se pierden al añadir la cubierta, mientras que el γ fosfato del nucleótido iniciador (aquí un residuo A, rojo en la figura) se pierde durante la cubierta adicional.

de la transcripción mediante enzimas no dirigidas por plantillas a moléculas precursoras de mRNA (pre-mRNA). El mRNA representa de 2 a 5% del RNA celular eucariótico total.

En las células de mamíferos, incluidas las células de los humanos, las moléculas de mRNA presentes en el citoplasma no son los productos de RNA inmediatamente sintetizados a partir de una plantilla de DNA, sino que deben formarse mediante el procesamiento del precursor, o pre-mRNA antes de entrar en el citoplasma. Por tanto, en los núcleos de las células de los mamíferos, los productos inmediatos de la transcripción génica (transcritos primarios) son muy heterogéneos y pueden ser de 10 a 50 veces más largos que las moléculas de mRNA maduras. Como se discutió en el capítulo 36, las moléculas de pre-mRNA se procesan para generar moléculas de mRNA, que luego ingresan al citoplasma para servir como unas plantillas para la síntesis de proteínas.

RNA de transferencia

Las moléculas de tRNA varían en longitud desde 74 a 95 nucleótidos, como muchos otros RNA, también se generan mediante el

procesamiento nuclear de una molécula precursora (véase capítulo 36). Las moléculas de tRNA sirven como adaptadores para la traducción de la información en la secuencia de nucleótidos del mRNA de aminoácidos específicos. Existen al menos 20 especies de moléculas de tRNA en cada célula, al menos una (y a menudo varias) correspondientes a cada uno de los 20 aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas. Aunque cada tRNA específico difiere de los demás en su secuencia de nucleótidos, las moléculas de tRNA como clase tienen muchas características en común. La estructura primaria —es decir, la secuencia de nucleótidos— de todas las moléculas de tRNA permite un extenso plegamiento y una complementariedad intracadena para generar una estructura secundaria que aparece en dos dimensiones, como una hoja de trébol (**figura 34-11**).

Todas las moléculas de tRNA contienen cuatro brazos o tallos principales de doble cadena, conectados por asas de una cadena, llamados así por su respectiva composición o función de nucleótidos. El **brazo aceptor** termina en los nucleótidos $CpCpA_{OH}$. Estos tres nucleótidos se agregan después de la transcripción por una enzima específica nucleotidil transferasa. El aminoácido tRNA apropiado se fija, o "carga", en el grupo 3'-OH del resto A del brazo aceptor mediante la acción de aminoacil tRANA sintetasas específicas (véase figura 37-1). Los **D, TΨC, y brazos extra** ayudan a definir un tRNA específico. Los tRNA componen aproximadamente 20% del RNA celular total.

RNA ribosómico

Un ribosoma es una estructura de nucleoproteína citoplásmica que actúa como la maquinaria para la síntesis de proteínas a partir de unas plantillas de mRNA. En los ribosomas, las moléculas de mRNA y tRNA interactúan para traducir la información transcrita del gen durante la síntesis del mRNA en una proteína específica. Durante los periodos de la síntesis de proteína activa, muchos ribosomas pueden estar asociados con cualquier molécula de mRNA para formar un ensamblaje llamado **polisoma** (véase figura 37-7).

Los componentes del ribosoma en los mamíferos, que tiene un peso molecular de aproximadamente 4.2×10^6 y un coeficiente de velocidad de sedimentación de 80S (**S = unidades Svedberg**, un parámetro sensible del tamaño y forma molecular) se muestran en el **cuadro 34-2**. El ribosoma de los mamíferos contiene dos subunidades principales de nucleoproteína, una más grande con un peso molecular de 2.8×10^6 (60S) y una subunidad más pequeña con un peso molecular de 1.4×10^6 (40S). La subunidad 60S contiene un rRNA de 5S, un rRNA de 5.8S y un rRNA de 28S; también hay más de 50 polipéptidos específicos. La subunidad 40S es más pequeña y contiene un único rRNA 18S y aproximadamente 30 cadenas polipeptídicas distintas. Todas las moléculas de rRNA, excepto el rRNA 5S, que se transcribe independientemente, se procesan a partir de una única molécula precursora de RNA de 45S en el nucléolo (véase capítulo 36). Las moléculas de rRNA altamente metiladas se empaquetan en el nucléolo con las proteínas ribosómicas específicas. En el citoplasma, los ribosomas permanecen bastante estables y capaces de muchos ciclos de traducción. Las funciones exactas de las moléculas de rRNA en la partícula ribosómica no se conocen por completo, pero son necesarias para el ensamblaje ribosómico y también desempeñan una función clave en la unión del mRNA a los ribosomas y su traducción. Estudios recientes indican que el componente grande del rRNA realiza la actividad peptidil transferasa y, por tanto, es una ribozima. Los rRNA (28S + 18S) representan aproximadamente 70% del RNA celular total.

RNA pequeño

Una gran cantidad de pequeñas especies de RNA discretas, y muy conservadas se encuentran en las células eucariotas; algunos son bastante estables. La mayoría de estas moléculas están compuestas con proteínas para formar ribonucleoproteínas y se distribuyen en el núcleo, el citoplasma, o ambos. Varían en tamaño de 20 a 1 000 nucleótidos y están presentes en 100 000 a 1 000 000 de copias por célula, colectivamente representan ≤5% de RNA celular.

RNA pequeños nucleares

Los snRNA, un subconjunto de los RNA pequeños nucleares (cuadro 34-1), están significativamente implicados en el procesamiento del rRNA y mRNA y la regulación génica. De los varios snRNA, el U1, U2, U4, U5 y U6 están involucrados en la eliminación del intrón y el procesamiento de precursores de mRNA en mRNA dentro del núcleo (véase capítulo 36). El snRNA U7 está involucrado en la producción de los extremos 3' correctos de la histona del mRNA, que carece de una cola de poli (A). El RNA 7SK se asocia con varias proteínas para formar una ribonucleoproteína compleja, denominada P-TEFb, que modula la elongación de la transcripción del gen de mRNA por la RNA polimerasa II (véase capítulo 36).

Los RNAs reguladores no codificantes grandes y pequeños: Los micro-RNA (miRNAs, micro-RNAs), los RNA silenciadores (siRNAs, silencing RNAs), los RNA largos no codificadores (lncRNAs, long noncoding RNAs) y los RNA circulares (circRNAs, circular RNAs)

Uno de los descubrimientos más interesantes y no anticipados en la última década de la biología reguladora eucariota ha sido la identificación y caracterización de los RNA reguladores no codificantes de proteínas (ncRNAs, *nonprotein coding RNAs*). Los ncRNA existen en dos clases generales de tamaño, grande (50-1 000nt) y pequeña (20-22nt). Los ncRNA reguladores se han descritos en la mayoría de los eucariotas (véase capítulo 38).

Los ncRNA pequeños denominados miRNA y siRNA típicamente inhiben la expresión génica a nivel de la producción de una proteína específica por un mRNA blanco a través de uno de los variados mecanismos diferentes. Los miRNA se generan por procesamiento nucleolítico específico de los productos de distintas unidades genes/transcripción (véase figura 36-17). Los precursores de miRNA, que están 5'-casquetados y 3'-poliadenilados, generalmente varían en tamaño aproximadamente de 500 hasta 1 000 nucleótidos.

Por el contrario, los siRNA se generan por el procesamiento nucleolítico específico de grandes dsRNA que se producen de otros RNA endógenos, o dsRNA introducidos en la célula por virus RNA, por ejemplo. Tanto **los siRNA como los miRNA se hibridan mediante la formación de hibridación RNA-RNA con sus mRNA blancos** (véase figura 38-19). Hasta la fecha, se han descrito cientos de miRNA y siRNA distintos en los humanos; las estimaciones sugieren que hay ~ 1 000 genes que codifican miRNA humanos. Dada su exquisita especificidad genética, tanto los miRNA como los siRNA representan nuevos y excitantes **agentes potenciales para el desarrollo de fármacos terapéuticos**. Los siRNA se usan con frecuencia para disminuir o "noquear" concentraciones de proteínas específicas (por medio de degradación de mRNA dirigida hacia homología de siRNA) en contextos experimentales en el laboratorio, una herramienta extremadamente útil y poderosa a la tecnología

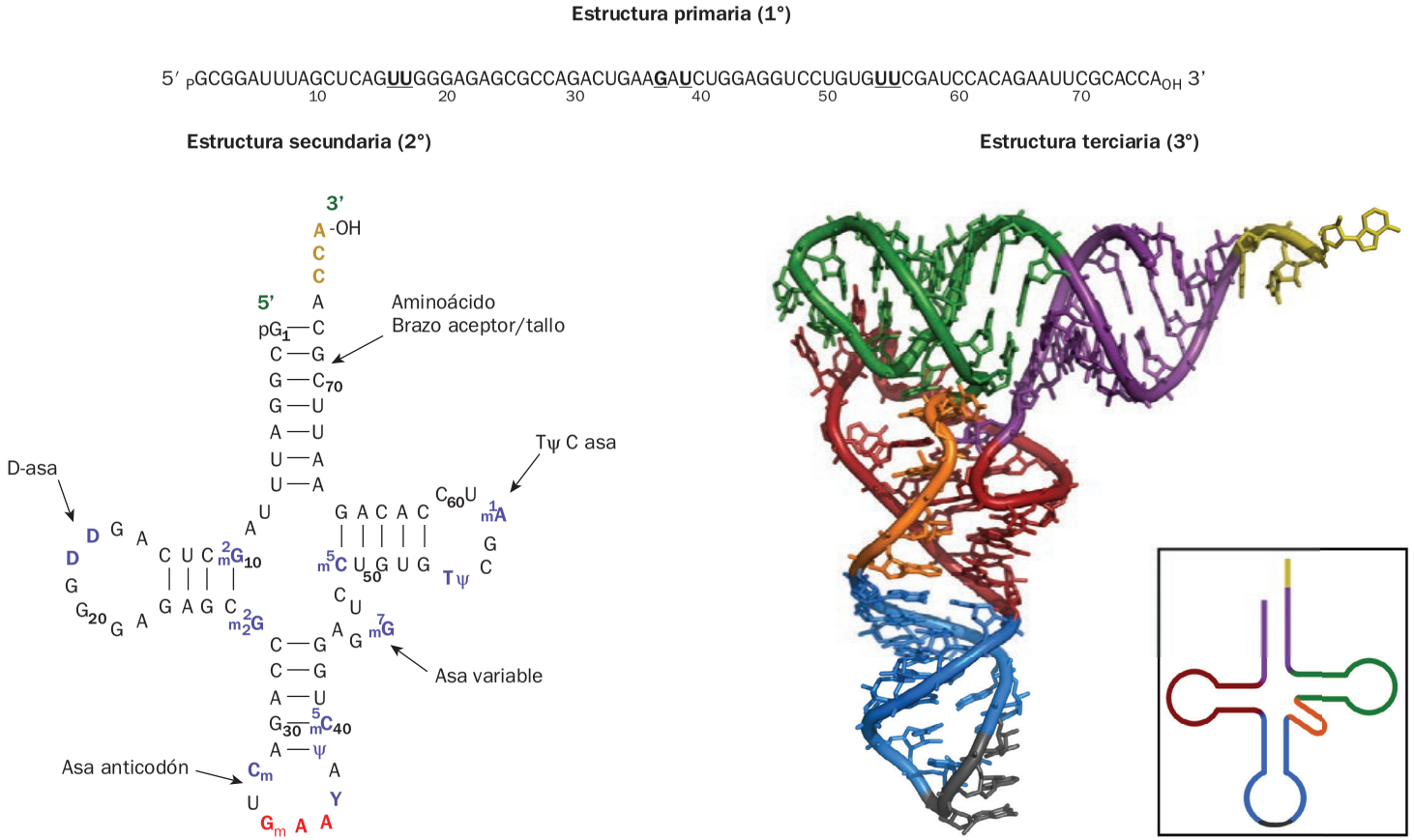


FIGURA 34-11 **Estructura de un tRNA maduro y funcional, fenilalanil-tRNA de levadura (tRNA^{Phe}, *phenylalanyl-tRNA*).** Se muestran las estructuras primaria 1°), secundaria 2°) y terciaria 3°) (superior, inferior izquierda e inferior derecha, respectivamente) de tRNA^{Phe}. Los números debajo de la estructura primaria prolongada de tRNA^{Phe} de 76 nucleótidos indican la numeración de nucleótidos desde el extremo 5' (+1) al terminal 3' (+76) de la molécula. Obsérvese que el nucleótido +1 contiene un resto 5' fosfato (P), mientras que el nucleótido 3' tiene un grupo libre 3' hidroxilo (OH). Las bases subrayadas en negrita dentro de la secuencia de tRNA^{Phe} modifican fuertemente a los nucleótidos que se muestran en la representación estructural 2° de tRNA^{Phe}. Esta estructura a menudo se denomina como "hoja de trébol". Algunos de estos nucleótidos tienen nombres de ribonucleótidos no canónicos, como se representa en el modelo estructural 2°. Dentro de tRNA^{Phe}, los nucleótidos U_{16} y U_{17} se modifican a D_{16}, D_{17}; G_{37} a Y_{37}; U_{39} y U_{55} a Ψ; y U_{54} a T_{54} (véase texto a continuación para más detalles). Las líneas rectas entre las bases dentro de la estructura secundaria del tRNA representan los enlaces de hidrógeno formados entre las bases (A-U; G-C). Nótese que estas regiones de estructura secundaria se forman con la misma polaridad de cadena (es decir, 5' a 3' y 3' a 5') como regiones del DNA emparejadas por pares. Las tres bases del asa del anticodón se muestran en rojo. En el caso de los tRNA cargados con aminoácidos, una parte aminoacil se esterifica al terminal 3'-CCA_{OH} (carmelita, en este caso el aminoácido sería la fenilalanina, no se muestra). El tipo azul resalta los nucleótidos no tradicionales introducidos por modificación postraduccional, abreviados de la siguiente manera: m^2G = 2-metilguanosina; D = 5,6-dihidrouridina; m^2_2 G = N2- dimetilguanosina; C_m = O2'-metilcitidina; G_m = O2'-metilguanosina; T = 5-metiluridina; Y = wybutosina; Ψ = pseudouridina; m^5C = 5-metilcitidina; m^7G = 7-metilguanosina; m^1A = 1-metiladenosina. Esencialmente, todos los tRNA se pliegan en estructuras terciarias 3°) con características similares como se muestra, debajo a la derecha. Las porciones distintas de la molécula en 2° (inserción) y configuraciones de 3° están codificadas por colores en esta imagen para mayor claridad. El tRNA^{Phe} fue el primer ácido nucleico cuya estructura se determinó mediante cristalografía de rayos X. Dichas estructuras de tRNA tridimensionales distintas se unen específicamente a sitios funcionales importantes tanto en la aminoacil tRNA sintetasas como en los ribosomas durante la síntesis de proteínas (véase capítulo 37). Las imágenes de estructura secundaria y terciaria de tRNA^{Phe} son figuras de código abierto de Wikipedia (Wikipedia.org/Wikipedia/commons/b/ba/ TRNA_Phe_yeast_1ehz.png).

CUADRO 34-2 Componentes de los ribosomas de los mamíferos

		Proteína		RNA		
Componente	**Masa (MW)**	**Número**	**Masa**	**Tamaño**	**Masa**	**Bases**
Subunidad 40S	1.4×10^6	33	7×10^5	18S	7×10^5	1 900
Subunidad 60S	2.8×10^6	50	1×10^6	5S	3.5×10^4	120
				5.8S	4.5×10^4	160
				28S	1.6×10^6	4 700

Nota: Las subunidades ribosomales se definen según su velocidad de sedimentación en unidades Svedberg (**S**) (40S o 60S). Se detallan el número de proteínas **únicas** y su masa total (MW) y los componentes del RNA de cada subunidad en tamaño (unidades de Svedberg), masa y número de bases.

de bloqueo de genes (véase capítulo 39). De hecho, varios ensayos clínicos terapéuticos basados en siRNA están en progreso para probar la eficacia de estas nuevas moléculas como fármacos para tratar enfermedades humanas.

Otras recientes observaciones interesantes en el ámbito del RNA son la identificación y caracterización de dos clases de RNA no codificadoras más grandes, los **RNA circulares (circRNAs)** y los **RNA largos que no codifican**, o **lncRNA**. Muchos **circRNA** han sido recientemente descubiertos y caracterizados. Los circRNA parecen producirse por reacciones tipo empalme de RNA a partir de una amplia gama de precursores de RNA, tanto precursores de mRNA como precursores de lncRNA no proteico (véase a continuación para más información sobre los lncRNA). Aunque no es una clase abundante de moléculas de RNA en la mayoría de las células, se han detectado circRNA en todos los eucariotas analizados, particularmente en los metazoos. Mientras las funciones de los circRNA todavía se están elucidando, parecen ser particularmente abundantes en las células del sistema nervioso. De forma similar a los lncRNA, estas moléculas probablemente desempeñan una función importante en la biología celular mediante la regulación de la expresión génica en múltiples niveles. Los lncRNA, que como su nombre lo indica, no codifican proteínas, y varían en tamaño desde ≈300 a 1 000 s de nucleótidos en longitud. Estos RNA se transcriben típicamente a partir de las grandes regiones de genomas eucarióticos que no codifican para proteína (es decir, los genes que codifican mRNA). De hecho, los análisis de los transcriptomas indican que **>90% de todo el DNA genómico eucariota se transcribe**. Los ncRNA constituyen una parte importante de esta transcripción. Los ncRNA desempeñan muchas funciones que van desde la contribución a los aspectos estructurales de la cromatina hasta la regulación de la transcripción del gen de mRNA por la RNA polimerasa II. El trabajo futuro caracterizará aún más a esta clase de moléculas de RNA importantes, recién descubiertas.

Curiosamente, las bacterias también contienen RNA reguladores pequeños y heterogéneos denominados sRNA. Los sRNA bacterianos varían en tamaño de 50 a 500 nucleótidos, y de forma similara los mi/si/lncRNA eucariotas, también controlan una gran variedad de genes. Los sRNA a menudo reprimen, pero a veces activan la síntesis de proteínas uniéndose a un mRNA específico.

LAS NUCLEASAS ESPECÍFICAS DIGIEREN ÁCIDOS NUCLEICOS

Se han reconocido durante muchos años las enzimas capaces de degradar los ácidos nucleicos. Estas nucleasas se pueden clasificar en varias formas. Aquellas que exhiben especificidad por el DNA se denominan **desoxirribonucleasas**. Aquellas nucleasas que hidrolizan específicamente el RNA son **ribonucleasas**. Algunas nucleasas degradan tanto el DNA como el RNA. Dentro de estas dos clases hay enzimas capaces de escindir enlaces fosfodiéster internos para producir terminales 3'-hidroxilo y 5'-fosforilo o terminales 5'-hidroxilo y 3'-fosforilo. Estas se conocen como **endonucleasas**. Algunas son capaces de hidrolizar ambas cadenas de una molécula **de doble cadena**, mientras que otros sólo pueden cortar **cadenas simples** de ácidos nucleicos. Algunas nucleasas pueden hidrolizar sólo cadenas únicas no apareadas, mientras que otras son capaces de hidrolizar cadenas simples que participan en la formación de una molécula de doble cadena. Existen clases de endonucleasas que reconocen secuencias específicas en el DNA. Una clase de estas enzimas de escisión de DNA, las **endonucleasas de restricción**, también denominadas enzimas de restricción, lo hacen directamente uniendo pares de bases de DNA contiguos (típicamente 4, 5, 6 u 8 bp) y escindiendo ambas cadenas de DNA, generalmente el DNA dentro del elemento secuencia de reconocimiento/unión. La segunda clase de enzimas, que son ribonucleoproteínas complejas, utiliza un "RNA guía" de una secuencia de nucleótidos específica que tiene a una nucleasa como blanco para escindir secuencias distintas de DNA o RNA. Estas son las familias de enzimas **CRISPR-Cas**. Ambas clases de enzimas que escinden el DNA se describen con mayor detalle en el capítulo 39. Estas enzimas representan herramientas críticamente importantes en genética molecular y ciencias médicas.

Algunas nucleasas son capaces de hidrolizar un nucleótido sólo cuando está presente en un terminal de una molécula; estas se conocen como **exonucleasas**. Las exonucleasas actúan en una dirección (3 '→ 5' o 5 '→ 3') solamente. En las bacterias, una exonucleasa 3 '→ 5' es una parte integral de la maquinaria de replicación del DNA y sirve para editar —o corregir— el desoxinucleótido agregado más recientemente por errores de emparejamiento de bases.

RESUMEN

- El DNA consiste en cuatro bases —A, G, C y T— que se mantienen en un orden lineal mediante enlaces fosfodiéster a través de las posiciones 3' y 5' de las partes de desoxirribosa adyacentes.
- El DNA se organiza en dos cadenas mediante el emparejamiento de las bases A con T y G con C en cadenas complementarias. Estas cadenas forman una doble hélice alrededor de un eje central.
- Las ~3×10^9bp de DNA en los humanos están organizadas en el complemento haploide de 23 cromosomas. La secuencia exacta de estos 3 mil millones de nucleótidos define la singularidad de cada individuo.

- El DNA proporciona una plantilla para su propia replicación y, por tanto, el mantenimiento del genotipo y para la transcripción de aproximadamente 25 000 genes humanos que codifican proteínas, así como una gran variedad de ncRNA reguladores que no codifican proteínas.
- El RNA existe en muchas estructuras diferentes de una sola cadena, la mayoría de las cuales están directa o indirectamente implicadas en la síntesis de proteínas o su regulación. El conjunto lineal de nucleótidos en el RNA consiste en A, G, C y U, y el resto de azúcar es ribosa.
- Las principales formas de RNA incluyen al mRNA, rRNA, tRNA y snRNA y los ncRNA reguladores. Ciertas moléculas de RNA actúan como catalizadores (ribozimas).

REFERENCIAS

Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. *Cell* 2014;157:77.

Mayerle M, Guthrie C. Genetics and biochemistry remain essential in the structural era of the spliceosome. *Methods* 2017;125:3

Muruhan K, Babu K, Sundaresan R, *et al*. The revolution continues: newly discovered systems expand the CRISPR-Cas toolkit. *Molecular Cell* 2017;68:15.

Noller HF. The parable of the caveman and the Ferrari: protein synthesis and the RNA world. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2017;372(1716):20160187.

Rich A, Zhang S. Timeline: Z-DNA: the long road to biological function. *Nat Rev Genet* 2003;4:566.

Salzman J. Circular RNA expression: its potential regulation and function. *Trends Genet* 2016;32:309.

Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953;171:737.

CAPÍTULO 35

Organización, replicación y reparación del DNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Apreciar que los aproximadamente 3×10^9 pares de bases de ADN que componen el genoma haploide de los seres humanos se dividen de forma única entre 23 unidades lineales de DNA, los cromosomas. Los seres humanos, por ser diploides, tienen 23 pares de cromosomas lineales: 22 autosomas y dos cromosomas sexuales.
- Comprender que, si se extendiera de extremo a extremo, el DNA genómico humano mediría metros de longitud; pero que aun así cabe dentro del núcleo de la célula, un organelo de solamente micrómetros (μ: 10^{-6} metros) de diámetro. Esta condensación de la longitud del DNA es inducida en parte después de su asociación con carga altamente positiva que da como resultado la formación de un complejo único de DNA-histona denominado nucleosoma. Los nucleosomas tienen el DNA envuelto alrededor de la superficie de un octámero de histonas.
- Explicar cómo las cadenas de nucleosomas se forman a lo largo de la secuencia lineal del DNA genómico para formar la cromatina y cómo se produce luego la formación de los cromosomas desde la cromatina, específicamente tras la compactación y condensación aún mayor que realiza la cromatina por sí misma.
- Apreciar que, si bien los cromosomas son las unidades funcionales macroscópicas para la transcripción, replicación, recombinación, clasificación genética y división celular del DNA, es la función del DNA a nivel de los nucleótidos individuales la que compone las secuencias reguladoras enlazadas a genes específicos que son esenciales para la vida.
- Describir las etapas, la fase del ciclo celular, y las moléculas responsables de la replicación, reparación y recombinación del DNA, y comprender los efectos negativos que pueden tener sobre la integridad y la salud celular del organismo los errores en cualquiera de estos procesos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

La información genética en el DNA de un cromosoma puede ser transmitida por replicación exacta o puede ser intercambiada por una serie de procesos, que incluyen el entrecruzamiento, la recombinación, la transposición y la conversión génica. Estos procesos proporcionan un medio de garantizar la adaptabilidad y la diversidad para el organismo; pero, cuando salen mal, también pueden provocar enfermedades. Una serie de sistemas enzimáticos están involucrados en la replicación, alteración y reparación del DNA (*Deoxyribonucleic acid*). Las mutaciones se deben a un cambio en la secuencia de bases del DNA y pueden ser resultados tanto de la replicación defectuosa, como de la transposición o la reparación del DNA. Las mutaciones se producen aproximadamente en una de cada 10^6 divisiones celulares. Las anomalías en los productos génicos (ya sea en el RNA, la función de la proteína o la cantidad) son el resultado de mutaciones que suceden en el DNA codificador o en la región reguladora. Una mutación en una célula germinal se transmite a la descendencia (la llamada transmisión vertical de enfermedad hereditaria). Una cantidad de factores, que incluyen virus, productos químicos, luz ultravioleta y radiación ionizante, aumentan la tasa de mutación.

Las mutaciones a menudo afectan las células somáticas, por lo que se transmiten a sucesivas generaciones de células, pero sólo dentro de un organismo (es decir, horizontalmente). Se está vol-

* Hasta donde es posible, en este capítulo y los capítulos 36, 37, y 38, el análisis está dedicado a los organismos mamíferos, que están, por supuesto, entre los eucariotas superiores. Sin embargo, a veces será necesario hacer observaciones referidas a organismos procariotas, como bacterias y virus, o a sistemas modelo de eucariotas inferiores como *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* o la levadura, *Saccharomyces cerevisae*. En tales casos siempre se trata de información que puede ser fácilmente extrapolada a los mamíferos.

viendo evidente que una serie de enfermedades, y tal vez la mayoría de los cánceres, se deben a los efectos combinados de la transmisión vertical de mutaciones y de la transmisión horizontal de mutaciones inducidas.

LA CROMATINA ES EL MATERIAL CROMOSÓMICO EN LOS NÚCLEOS CELULARES DE LOS ORGANISMOS EUCARIOTAS

La **cromatina** consiste en **moléculas de DNA de hebras dobles** (**dsDNA,** ***double-stranded DNA***) muy largas, de masa casi igual a la de pequeñas proteínas básicas denominadas **histonas**, así como en una cantidad menor de **proteínas no histónicas** (la mayoría de las cuales son ácidas y más grandes que las histonas) y una pequeña cantidad de **RNA**. Las proteínas no histónicas incluyen enzimas implicadas en la replicación y reparación del DNA, y proteínas implicadas en la síntesis, el procesamiento y el transporte de RNA hacia el citoplasma. La hélice de dsDNA en cada cromosoma tiene una longitud que es miles de veces el diámetro del núcleo de la célula. Un objetivo de las moléculas que componen la cromatina, particularmente las histonas, es condensar el DNA; sin embargo, es importante tener en cuenta que las histonas también participan integralmente en la regulación de genes (véanse los capítulos 36, 38 y 42); de hecho, las histonas contribuyen de manera importante a todas las transacciones moleculares dirigidas por el DNA. Los estudios de microscopía electrónica de la cromatina han detectado partículas esféricas densas llamadas **nucleosomas**, que tienen aproximadamente 10 nm de diámetro y están conectadas por filamentos de DNA (véase **figura 35-1**). Los nucleosomas están compuestos por DNA enrollado alrededor de un complejo octamérico de moléculas de histona.

Las histonas son las proteínas más abundantes en la cromatina

Las histonas son una pequeña familia de proteínas básicas estrechamente relacionadas. Las **histonas H1** son las menos estrechamente unidas a la cromatina (véanse **figuras 35-1**, **35-2** y **35-3**) y son, por tanto, fácilmente eliminadas con una solución salina, después de lo cual la cromatina se vuelve más soluble. La unidad organizativa de esta cromatina soluble es el nucleosoma. **Los nucleosomas contienen cuatro tipos principales de histonas: H2A, H2B, H3** y **H4**. La secuencia y estructuras de las cuatro histonas, H2A, H2B, H3 y H4, las llamadas histonas nucleares que forman el nucleosoma, han sido altamente conservadas entre las especies, aunque cada una de las variantes de las histonas existen y se usan con fines especializados. Esta conservación extrema implica que la función de las histonas es idéntica en todos los eucariotas y que toda la molécula está involucrada específicamente en el desarrollo de esta función. Los dos tercios carboxilo terminal de las moléculas de histona son hidrofóbicos, mientras que sus tercios amino terminal son particularmente ricos en aminoácidos básicos. **Estas cuatro histonas nucleares están sujetas a por lo menos seis tipos de modificaciones covalentes de modificaciones postraduccionales (PTM,** ***posttranslational modifications*****)**: acetilación, metilación, fosforilación, ADP-ribosilación, monoubiquitilación y sumoilación. Estas modificaciones de histonas desempeñan papeles importantes en la estructura y función de la cromatina, tal como se ilustra en el **cuadro 35-1**.

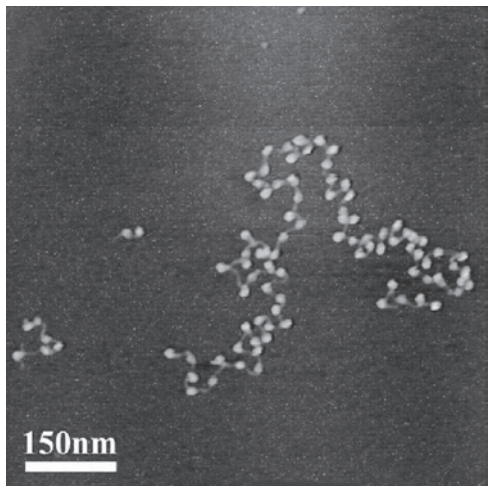


FIGURA 35-1 Microfotografía electrónica de la cromatina que muestra nucleosomas individuales (blancos, en forma redondeada) unidos a las hebras de DNA (delgada, línea gris); véase también la figura 35-2. (Reproducido, con permiso, de Shao Z. Probing nanometer structures with atomic force microscopy. *News Physiol Sci* 1999; 14:142-149. Cortesía del profesor Zhifeng Shao, Universidad de Virginia).

Las histonas interactúan entre sí de maneras muy específicas. **H3 y H4 forman un tetrámero** que contiene dos moléculas de cada una $(H3\text{-}H4)_2$, mientras que **H2A y H2B forman dímeros** (H2A-H2B). Bajo condiciones fisiológicas, estos oligómeros de histona se asocian para formar el **octámero de histona** de la composición $(H3\text{-}H4)_2\text{-}(H2A\text{-}H2B)_2$.

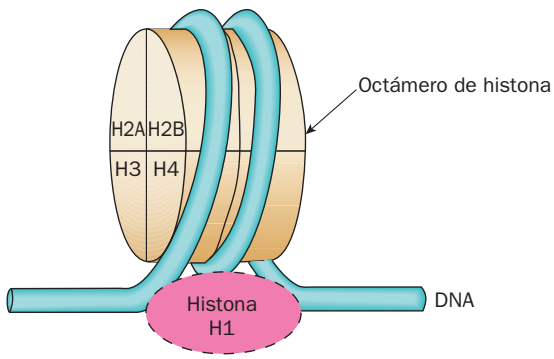


FIGURA 35-2 Modelo para la estructura del nucleosoma. El DNA se enrolla alrededor de la superficie de un cilindro de proteínas que consiste en dos de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 que forman el octámero de histona. Los ~145pb de DNA, que consisten en 1.75 vueltas superhelicoidales, están en contacto con el octámero de histona. La posición de la histona H1, cuando está presente, se indica mediante el contorno discontinuo en la parte inferior de la figura. Tenga en cuenta que la histona H1 interactúa con el DNA como si entrara y saliera del nucleosoma.

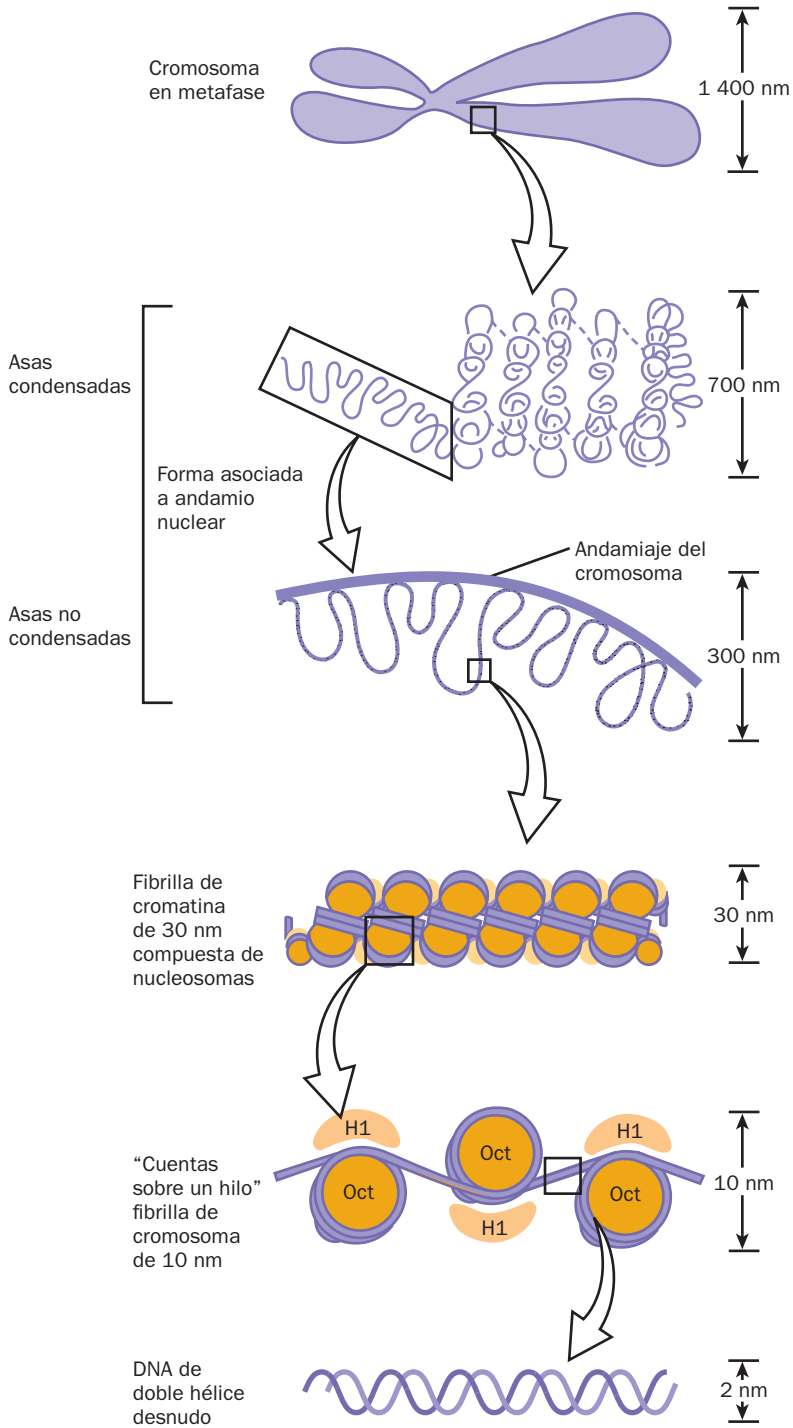


FIGURA 35-3 Extensión de la envoltura de DNA en los cromosomas en metafase (arriba); el DNA doble (abajo). El DNA cromosómico está compactado y organizado en varios niveles, como se muestra (véase cuadro 35-2). Cada fase de condensación o compactación y organización (de abajo hacia arriba) disminuye la accesibilidad general al DNA en un grado tal que las secuencias de DNA en los cromosomas metafásicos son casi totalmente inertes desde el punto de vista transcripcional. En total, estos cinco niveles de compactación de DNA dan como resultado una disminución lineal de casi 10^4 veces con respecto de la longitud de extremo a extremo del DNA. La condensación y la descondensación completas del DNA lineal en los cromosomas son procesos que ocurren en cuestión de horas durante el ciclo celular replicativo normal (véase figura 35-20).

CUADRO 35-1 Posibles funciones de histonas modificadas

1. La acetilación de histonas H3 y H4 se asocia con la activación o inactivación de la transcripción de gen.
2. La acetilación de histonas nucleares se asocia con el grupo cromosómico durante la replicación del DNA.
3. La fosforilación de histona H1 se asocia con la condensación de cromosomas durante el ciclo de replicación.
4. La ADP-ribosilación de histonas se asocia con la reparación de DNA.
5. La metilación de histonas se correlaciona con la activación y represión de la transcripción de genes.
6. La monoubiquitilación se asocia con la activación de genes, la represión y el silenciamiento de genes heterocromáticos.
7. La sumoilación de histonas (SUMO, *sumoylation of histones*: pequeño modificador relacionado con la ubiquitina) se asocia con la represión de la transcripción.

El nucleosoma contiene histona y DNA

Cuando el octámero de histona se mezcla con dsDNA purificado en condiciones iónicas apropiadas, se forma el mismo patrón de difracción de rayos X que el observado en la cromatina recién aislada. Los estudios bioquímicos y la microscopía electrónica confirman la existencia de nucleosomas reconstituidos. Además, la reconstitución de los nucleosomas a partir del DNA y las histonas H2A, H2B, H3 y H4 es independiente del origen orgánico o celular de los diversos componentes. Ni la histona H1 ni las proteínas no histónicas son necesarias para la reconstitución del núcleo del nucleosoma.

En el nucleosoma, el DNA está superenrollado en una hélice siniestra sobre la superficie del octámero de histona en forma de disco (véase figura 35-2). La mayoría de las proteínas de histona del núcleo interactúan con el DNA en el interior de la superhélice sin sobresalir, aunque se cree que las colas amino terminal de todas las histonas se extienden fuera de esta estructura y están disponibles para las PTM reguladoras (véase cuadro 35-1).

El tetrámero $(H3\text{-}H4)_2$ en sí mismo puede conferir propiedades similares al nucleosoma en el DNA y, por tanto, tiene un papel central en la formación del nucleosoma. La adición de dos dímeros H2A-H2B estabiliza la partícula primaria y se une firmemente a dos medias vueltas adicionales de DNA previamente unidas débilmente a los $(H3\text{-}H4)_2$. Por tanto, 1.75 vueltas de DNA superhelicoidales se enrollan alrededor de la superficie del octámero de histona, protegiendo de 145 a 150 pb de DNA y formando la partícula nuclear del nucleosoma (véase figura 35-2). En la cromatina, las **partículas del núcleo están separadas por una región de DNA de aproximadamente 30 pb llamada "enlazador"**. La mayoría del DNA se encuentra en una serie repetitiva de estas estructuras, lo que da a la cromatina una apariencia repetitiva de "collar de cuentas" cuando es examinada por microscopía electrónica (véase figura 35-1).

In vivo, el grupo de nucleosomas está mediado por uno de los varios factores de ensamblaje de la cromatina nuclear que son facilitados por chaperonas de histona, un grupo de proteínas que exhiben una alta afinidad para unir histonas. A medida que se ensambla el nucleosoma, las histonas se liberan de las chaperonas de histonas. Los nucleosomas parecen tener preferencia por ciertas regiones específicas de las moléculas de DNA, pero la base de esta distribución no aleatoria, denominada fase, aún no se ha entendido por completo. La fase está probablemente relacionada con la flexibilidad física relativa de secuencias de nucleótidos particulares para acomodar las regiones de torsión dentro del superenrrollado, así como también con la presencia de otros factores vinculados al DNA que limitan los sitios de la deposición del nucleosoma.

ESTRUCTURAS DE ORDEN SUPERIOR MANTIENEN COMPACTADA LA CROMATINA

La microscopía electrónica de la cromatina revela dos órdenes superiores de estructura: la fibrilla de 10 nm y la fibra de cromatina de 30 nm, más allá de la del propio nucleosoma. La estructura del nucleosoma tipo disco tiene un diámetro de 10 nm y una altura de 5 nm. La **fibrilla de 10 nm** consiste en nucleosomas dispuestos con sus bordes separados por una pequeña distancia (30 pb de DNA enlazador) con sus caras planas paralelas al eje de la fibrilla (véase figura 35-3). La fibrilla de 10 nm probablemente se superenrrolla con seis o siete nucleosomas por vuelta para formar la **fibra de cromatina de 30 nm** (véase figura 35-3). Cada vuelta de la superhélice es relativamente plana, y las caras de los nucleosomas de vueltas sucesivas serían casi paralelas entre sí. Las histonas H1 parecen estabilizar la fibra de 30 nm, pero su posición y la del DNA espaciador de longitud variable no está clara. Es probable que los nucleosomas puedan formar una variedad de estructuras empaquetadas. Para formar un cromosoma mitótico, la fibra de 30 nm debe compactarse otras cien veces más (véase más abajo).

En los **cromosomas en interfase**, las fibras de cromatina parecen organizarse en **asas o dominios** de 30 000 a 100 000 bp anclados en un **andamiaje**, o matriz de apoyo dentro del núcleo, la llamada **matriz nuclear**. Dentro de estos dominios, algunas secuencias de DNA pueden ubicarse de forma no aleatoria. Se ha sugerido que cada dominio de cromatina en asa corresponde a una o más funciones genéticas separadas, que contienen tanto regiones codificadoras como no codificadoras del gen o los genes afines. Es probable que esta arquitectura nuclear sea dinámica y tenga efectos importantes sobre la regulación genética. Datos recientes sugieren que ciertos genes o regiones de genes son móviles dentro del núcleo, se mueven en forma obligatoria hacia *loci* separados dentro del núcleo en el momento de la activación. Las investigaciones futuras determinarán qué mecanismos moleculares son responsables de estos comportamientos.

ALGUNAS REGIONES DE LA CROMATINA SON "ACTIVAS" Y OTRAS, "INACTIVAS"

En general, cada célula de un organismo metazoico individual contiene la misma información genética. Por tanto, las diferencias entre los tipos de células dentro de un organismo deben ser explicadas por expresión diferencial de la información genética común. Se ha mostrado que la cromatina que contiene genes activos (esto es cromatina activa desde el punto de vista transcripcional, o en potencia activa desde dicho punto de vista) difiere en varios aspectos de las regiones inactivas. La estructura de nucleosoma de la croma-

tina activa parece estar alterada, a veces de manera bastante extensa, en regiones muy activas. El DNA en la cromatina activa tiene grandes regiones (aproximadamente 100 000 bases de longitud) que son relativamente más **sensibles a la digestión por una nucleasa** tal como DNasa I. Debido a su baja especificidad de secuencia, la DNasa I produce cortes de una sola hebra casi en cualquier segmento de DNA. Digerirá DNA que no está protegido, o unido por proteína, hacia los desoxinucleótidos que lo componen. La sensibilidad a DNasa I de las regiones activas de la cromatina refleja sólo un potencial para transcripción más que transcripción en sí, y en varios sistemas celulares diferentes puede correlacionarse con una falta relativa de 5-metildesoxicitidina (meC, véase figura 32-7) en el DNA, y variantes particulares de histonas y/o histonas PTM (fosforilación, acetilación, etc.; véase cuadro 35-1).

En las grandes regiones de cromatina activa existen tramos más cortos, de 100 a 300 nucleótidos, que exhiben una sensibilidad aún mayor (otras 10 veces) a DNasa I. Estos **sitios hipersensibles** probablemente son el resultado de una conformación estructural que favorece el acceso de la nucleasa al DNA. Estas regiones a menudo se localizan inmediatamente corriente arriba del gen activo y son la ubicación de la estructura nucleosómica interrumpida causada por unión de proteína de factor de transcripción reguladoras no histona (potenciador de las proteínas activadoras de la transcripcionalidad de la unión; véanse capítulos 36 y 38). En muchos casos parece que, si un gen es capaz de transcribirse, es porque muy a menudo tiene un sitio o varios sitios hipersensibles a la DNasa en la cromatina ubicada inmediatamente corriente arriba. Como se indicó anteriormente, las proteínas reguladoras no histónicas involucradas en el control de la transcripción y aquellas involucradas en el mantenimiento del acceso a la hebra molde conducen a la formación de sitios hipersensibles. Tales sitios a menudo proporcionan la primera pista sobre la presencia y la ubicación de un elemento de control de la transcripción.

Por el contrario, como se observa en los estudios con microscopio electrónico, la cromatina transcripcionalmente inactiva se mantiene densamente compactada durante la interfase y se denomina heterocromatina. La cromatina transcripcionalmente activa se tiñe con menos densidad y se le denomina **eucromatina**. En general, la eucromatina se replica antes que la heterocromatina en el ciclo celular de los mamíferos (véase a continuación). La cromatina de estas regiones de inactividad a menudo tiene un alto contenido de meC mientras que las histonas allí contienen niveles relativamente bajos de ciertas modificaciones covalentes "activantes" y niveles más altos de histonas "reprimidas" PTM.

Existen dos tipos de heterocromatina: la constitutiva y la facultativa. La **heterocromatina constitutiva** siempre está condensada y, por tanto, es esencialmente inactiva. Se encuentra en las regiones cercanas al centrómero cromosómico y en los extremos cromosómicos (telómeros). La **heterocromatina facultativa** a veces se condensa, pero otras veces se transcribe activamente, por tanto, no se encuentra condensada y aparece bajo la forma de eucromatina. En las hembras de los mamíferos, de los dos miembros del par del cromosoma X uno es heterocromático y permanece casi por completo transcripcionalmente inactivo. Sin embargo, el cromosoma X heterocromático se descondensa durante la gametogénesis y se vuelve transcripcionalmente activo durante la embriogénesis temprana, por tanto, es heterocromatino facultativo.

Ciertas células de insectos, por ejemplo, *Chironomus* y *Drosophila*, contienen cromosomas gigantes que se han replicado para ciclos múltiples sin separación de las cromátidas hijas. Estas copias de DNA se alinean una al lado de la otra en un registro preciso y producen un cromosoma con bandas que contiene regiones de cromatina condensada y regiones con otras bandas iluminadas de cromatina más extendida. Desde el punto de vista transcripcional, las regiones activas de estos **cromosomas de politeno** están especialmente descondensadas en "**abultamientos**" que pueden mostrar que contienen las enzimas responsables de la transcripción y son los sitios de síntesis de RNA (véase **figura 35-4**). Al usar sondas de hibridación marcadas con fluorescencia, muy sensibles, es posible "mapear" secuencias de gen específicas, o "pintarlas", dentro de los núcleos de células de ser humano, incluso sin formación del cromosoma politeno, usando técnicas de FISH (hibridación *in situ* fluorescente; capítulo 39).

EL DNA SE ORGANIZA EN CROMOSOMAS

En la metafase, los **cromosomas** de mamíferos poseen una doble simetría, con las **cromátidas hermanas** idénticas duplicadas conec-

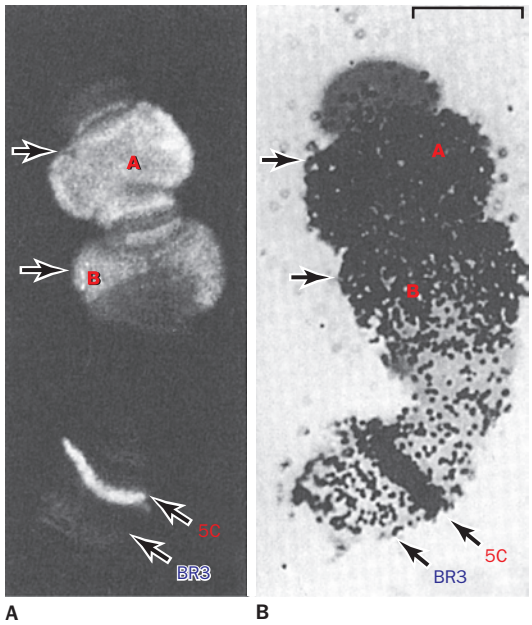


FIGURA 35-4 Ilustración de la estrecha correlación entre la presencia de RNA polimerasa II (véase cuadro 36-2) y la síntesis de RNA mensajero. Un número de genes, marcados como A y B (arriba) y 5C, no así los genes en el *locus* (banda) BR3(5C, BR3, debajo) son activados cuando la larvas *Chironomus tentans larvae* está sujeta a un choque de calor (39 °C por 30 larvas). (A) Distribución de RNA polimerasa II en un cromosoma IV aislado de las glándulas salivares (en flechas). La enzima fue detectada por inmunofluorescencia usando un anticuerpo marcado y fluorescentemente dirigido contra la polimerasa. La 5C y la BR3 son bandas específicas del cromosoma IV, y las flechas indican abultamientos (es decir A, B y 5C). (B) Autorradiograma de un cromosoma IV que se incubó en ^{3}H-uridina para marcar el RNA. Téngase en cuenta la correspondencia entre la inmunofluorescencia y la presencia del RNA radiactivo (puntos negros) (es decir, A, B, 5C). Bar = 7 μm. (Reproducido, con permiso, de Sass H. RNA polymerase B in polytene chromosomes. *Cell* 1982;28:274. Copyright © 1982. Reimpreso con permiso de Elsevier).

tadas en un **centrómero**, cuya posición relativa es característica para cada cromosoma dado (véase **figura 35-5**). Un centrómero es una región rica en adenina-timina (A-T) que contiene secuencias repetidas de DNA o pares de bases (pb, *base pairs*) que varían en tamaño desde 102 (en la levadura de cerveza) a 106 (en los mamíferos). Los centrómeros metazoarios están unidos por nucleosomas que contienen la CENP-A, una variante de la proteína histona H3, y otras proteínas específicas de unión a centrómero. Este complejo, llamado **cinetocoro**, proporciona el ancla para el huso mitótico. Por tanto, es una estructura esencial para la segregación cromosómica durante la mitosis.

Los extremos de cada cromosoma contienen estructuras llamadas **telómeros**. Los **telómeros consisten en repeticiones cortas ricas en TG.** Los telómeros humanos tienen un número variable de repeticiones de la secuencia 5'-TTAGGG-3', que puede extenderse por varias kilobases. La **telomerasa**, un molde de RNA multisubunidad que contiene complejos relacionados con las DNA polimerasas dependientes de RNA viral (transcriptasas inversas), es la enzima responsable de la síntesis de los telómeros y, por tanto, de mantener la longitud de los mismos. Como el acortamiento de los telómeros ha sido asociado tanto a transformaciones malignas (véase capítulo 56) como al envejecimiento (véase capítulo 58), esta enzima se ha convertido en un objetivo de gran interés para la quimioterapia contra el cáncer y el desarrollo de fármacos (véase capítulo 56). Cada cromátida hermana contiene una molécula de dsDNA. Como se ilustra en la figura 35-3, durante la interfase, el empaquetamiento de la molécula de DNA es menos denso que en el cromosoma condensado durante la metafase. Los cromosomas en metafase son casi completamente inactivos desde el punto de vista transcripcional.

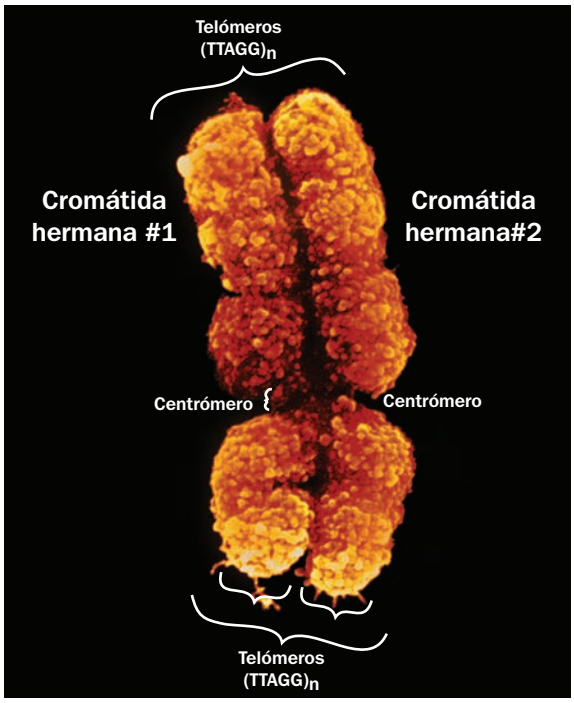


FIGURA 35-5 Las dos cromátidas hermanas del cromosoma mitótico 12 humano. Aparece indicada la ubicación de la región centromérica rica en A+T que conecta a las cromátidas hermanas, así como dos de los cuatro telómeros residentes en los extremos finales de las cromátidas que están adheridas una a la otra en el centrómero. (Reimpreso con permiso de Biophoto Associates/Photo Researchers, Inc).

CUADRO 35-2 Las relaciones de empaquetamiento o compactación de cada uno de los órdenes de la estructura del DNA

Forma de la cromatina	Relación de empaquetamiento
DNA de doble hélice desnudo	~1.0
10-nm fibrillas de nucleosomas	7-10
30-nm fibra de cromatina de nucleosoma superhelicoidales	40-60
Asas de cromosomas en metafase condensados	8000

El genoma haploide humano consta de aproximadamente 3×10^9 pb y aproximadamente 1.7×10^7 nucleosomas. Por tanto, cada una de las 23 cromátidas en el genoma haploide humano contendría en promedio 1.3×10^8 nucleótidos en una molécula de dsDNA. Por tanto, la longitud de cada molécula de DNA debe comprimirse alrededor de 8 000 veces para generar la estructura de un cromosoma metafásico condensado. En los cromosomas en metafase, las fibras de cromatina de 30 nm también se pliegan en una serie de dominios en asa, porciones proximales a través de las cuales son ancladas a la matriz nuclear, probablemente por su interacción con proteínas denominadas láminas, componentes integrales de la membrana interna del núcleo (véanse figuras 35-3 y 49-4). Las relaciones de empaquetamiento de cada uno de los órdenes de la estructura del DNA se han resumido en el **cuadro 35-2**. El empaquetamiento de las nucleoproteínas dentro de las cromátidas no es aleatorio, como lo demuestran los patrones característicos observados cuando los cromosomas se tiñen con tintes específicos como la quinacrina o la tinción de Giemsa (véase **figura 35-6**).

El patrón de tinción (formación de bandas) de todo el complemento cromosómico es altamente reproducible de individuo a individuo, dentro de una única especie; sin embargo, difiere significativamente entre especies, incluso entre aquellas estrechamente relacionadas. De este modo, la aglomeración de nucleoproteínas en cromosomas de eucariotas superiores debe depender de alguna manera de las características particulares que tienen las moléculas de DNA en cada especie.

La combinación de técnicas de tinción especializadas y microscopía de alta resolución ha permitido a los citogenetistas mapear con bastante precisión muchos genes de regiones específicas tanto en cromosomas de ratones como en cromosomas humanos. Con la reciente elucidación de las secuencias del genoma humano y las secuencias del genoma de los ratones (entre otras), ha quedado claro que muchos de estos métodos de mapeo visual han resultado notablemente precisos.

Las regiones codificadoras a menudo están interrumpidas por secuencias interpuestas

Las regiones codificadoras de proteína del DNA, cuyas transcripciones aparecen en el citoplasma como moléculas de mRNA únicas, por lo general están interrumpidas en el genoma eucariótico

FIGURA 35-6 **Un cariotipo humano (de un hombre con constitución normal 46, XY), en el que los cromosomas en metafase se han teñido según el método de Giemsa y se han alineado de acuerdo con el Convenio de París.** (Reproducido con permiso de H Lawce y F Conte).

por grandes secuencias interpuestas de DNA que no codifica para proteína. De acuerdo con esto, las **transcripciones primarias** o los **precursores de mRNA** (originalmente fueron denominados **hnRNA** porque esta especie de RNA era bastante heterogénea en tamaño [longitud] y estaba en su gran mayoría restringida al núcleo), contienen secuencias de RNA interpuestas no codificadoras que deben eliminarse en un proceso que también une los segmentos de codificación apropiados para formar el mRNA maduro. La mayoría de las secuencias de codificación para un único mRNA se interrumpen en el genoma (y, por tanto, en la transcripción primaria) por al menos una, y en algunos casos hasta 50, secuencias interventoras no codificantes (**intrones**). En la mayoría de los casos, los intrones son mucho más largos que las regiones de codificación (**exones**). El procesamiento de la transcripción primaria, que implica la eliminación precisa de intrones y el empalme de los exones adyacentes, es explicado en el capítulo 36.

La función de las secuencias interpuestas, o intrones, no está totalmente clara. Sin embargo, las moléculas precursoras de mRNA pueden ser empalmadas diferencialmente, aumentando así el número de proteínas distintas (aunque relacionadas) producidas por un único gen y su correspondiente transcripción primaria del gen de mRNA. Los intrones también pueden servir para separar los dominios funcionales (exones) de la información codificada de forma tal que permiten que la reorganización genética por recombinación ocurra más rápido que si fueran contiguas todas las regiones de codificación para una función genética dada. Esta tasa mejorada de reordenamiento genético de dominios funcionales podría permitir una evolución más rápida de la función biológica. En algunos casos, otras proteínas de codificación o RNA no codificante se localizan dentro del DNA intrónico de ciertos genes (véase capítulo 34). Las relaciones entre el DNA cromosómico, los grupos de genes en el cromosoma, la estructura de genes exón-intrón y el producto de mRNA final se ilustran en la **figura 35-7**.

TODAVÍA NO ES BIEN COMPRENDIDO EL FUNCIONAMIENTO EXACTO DEL GENOMA DE MUCHOS MAMÍFEROS

El genoma haploide de cada célula humana consta de 3.3×10^9 pb de DNA subdividido en 23 cromosomas. El genoma haploide completo contiene DNA suficiente para codificar casi 1.5 millones de genes codificadores de proteínas de tamaño promedio (es decir, ~2 200 pb de DNA codificador de proteína). Sin embargo, los primeros estudios sobre las tasas de mutación y las complejidades de los genomas de los organismos superiores sugirieron que los humanos tienen significativamente menos de 100 000 proteínas codificadas por el ~1% del genoma humano que está compuesto de DNA exónico. De hecho, estimaciones actuales basadas en la secuenciación del genoma humano sugieren que en los seres humanos hay alrededor de 25 000 genes que codifican proteínas. Esto implica que la mayoría del DNA genómico no codifica proteínas, es decir, su información nunca se traduce en una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína. Parte de este exceso de DNA sirve para regular la expresión de determinados genes durante el desarrollo, la diferenciación y la adaptación al entorno, ya sea sirviendo como sitios de unión para proteínas reguladoras o codificando ncRNA reguladores. Cierto exceso constituye claramente las secuencias interpuestas o intrones que dividen las regiones codificantes de los genes, y otra porción del exceso parece estar compuesta de muchas familias de secuencias repetidas para las cuales aún no se han definido las funciones claras, aunque algunos RNA pequeños transcritos de estas repeticiones pueden modular la transcripción, ya sea directamente al interactuar con el mecanismo

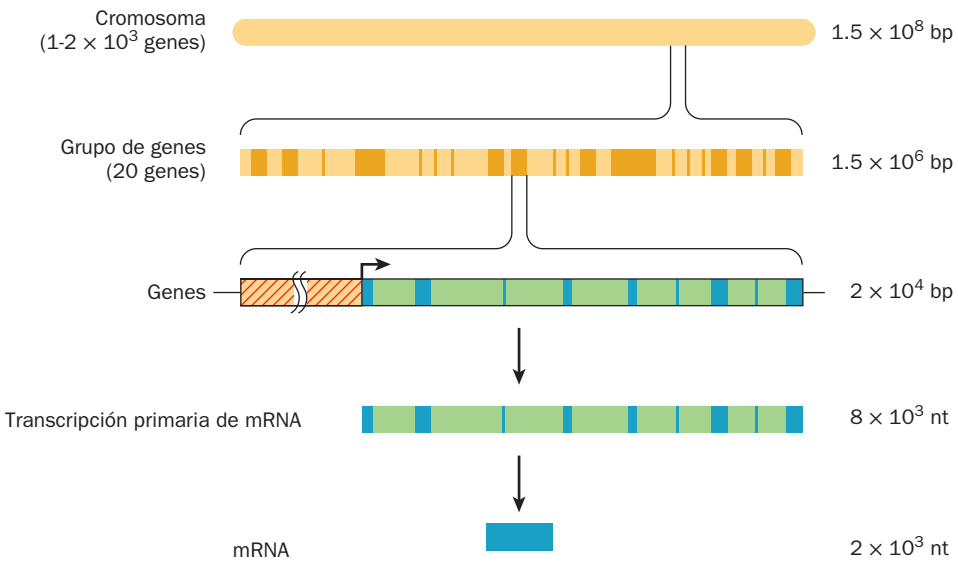


FIGURA 35-7 La relación entre el DNA cromosómico y el mRNA. La totalidad de DNA haploide humano de 3×10^9 pb se distribuye de manera desigual entre 23 cromosomas (véase figura 35-6). A menudo los genes se agrupan en estos cromosomas. Un gen promedio tiene 2×10^4 pb de longitud, incluida la región reguladora (área sombreada de rojo), que a menudo se encuentra en el extremo 5' del gen. La región reguladora se muestra aquí adyacente al sitio de iniciación de la transcripción (flecha que dobla). La mayoría de los genes eucarióticos tienen exones e intrones que se alternan. En este ejemplo, hay nueve exones (áreas en color azul) y ocho intrones (áreas en color verde). Los intrones se eliminan de la transcripción primaria mediante reacciones de procesamiento, y los exones son reunidos (puestos juntos) en una sola secuencia para formar el mRNA maduro a través de un proceso denominado corte y empalme de RNA. (nt: nucleótidos).

de transcripción o indirectamente al afectar la actividad de la plantilla de cromatina. Curiosamente, el consorcio del proyecto ENCODE (véanse los capítulos 10 y 39) ha demostrado que la mayoría de la secuencia genómica se transcribe en al menos algunos tipos de células humanas, aunque a un nivel bajo. Una gran parte de dicha transcripción parece generar el lncRNAs (véase capítulo 34). Futuras investigaciones dilucidarán la función o las funciones desempeñadas por tales transcripciones.

En un genoma eucariota el DNA se puede dividir en dos amplias "clases de secuencia": DNA de secuencia única o DNA no repetitivo y DNA de secuencia repetitiva. En el genoma haploide, el DNA de secuencia única incluye generalmente los genes de copia única que codifican las proteínas, mientras que el DNA repetitivo incluye las secuencias cuyo número de copias por célula varía de 2 y hasta 107.

Más de la mitad del DNA de los organismos eucariotas se encuentra en secuencias únicas o no repetitivas

Esta estimación y la amplia organización a nivel genómico de la secuencia repetitiva de DNA se basó en una variedad de técnicas, y más recientemente en la secuenciación directa del DNA genómico. Se usaron técnicas similares para determinar el número de genes que codifican proteínas. En la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota inferior), se expresan aproximadamente dos tercios de sus 6 200 genes, pero sólo se requiere un aproximado de una quinta parte para la viabilidad del crecimiento en condiciones de laboratorio. En tejidos típicos de eucariotas mayores (p. ej.; del hígado y del riñón de mamíferos), se expresan activamente entre 10 000 y 15 000 genes. Si bien diferentes combinaciones de genes se expresan en cada tejido, cómo esto se logra es una de las principales interrogantes que aún permanece sin respuesta en el campo de la biología.

En el DNA humano, al menos 30% del genoma consiste en secuencias repetitivas

El DNA de secuencia repetitiva se puede clasificar como moderadamente repetitivo o como altamente repetitivo. Las secuencias altamente repetitivas constan de tramos de 5 a 500 pares de bases repetidas muchas veces en tándem. Estas secuencias a menudo se agrupan en centrómeros y telómeros del cromosoma y algunas están presentes en aproximadamente 1 a 10 millones de copias por genoma haploide. La mayoría de estas secuencias son transcripcionalmente inactivas; sin embargo, algunas desempeñan un papel estructural en el cromosoma. (véanse figura 35-5, y capítulo 39).

Las secuencias moderadamente repetitivas, que se definen como presentes en números de menos de 10^6 copias por genoma haploide, no están agrupadas, sino intercaladas con secuencias únicas. En muchos casos, estas largas repeticiones intercaladas son transcritas por la RNA polimerasa II y contienen cubiertas 5 Cap que no se distinguen de las del mRNA. Dependiendo de su longitud, las secuencias moderadamente repetitivas se clasifican en **elementos nucleares largos entremezclados** (**LINEs, *long interspersed nuclear elements***) o **elementos nucleares cortos entremezclados** (**SINE, *short interspersed nuclear elements***). Ambos tipos parecen ser **retroposones**, es decir, surgieron del movimiento de un lugar a otro (**transposición**) a través de un RNA intermediario por la acción de la transcriptasa inversa que transcribe una plantilla de RNA hacia el DNA. Los genomas de los mamíferos contienen de 20 000 a 50 000 copias de LINEs (6-7 kbp) que conforman familias específi-

cas de elementos repetidos por especie. Sin embargo, puede haber hasta más de 100 000 copias de SINE (70-300 pb) por genoma. Entre los SINE del genoma humano, se destaca una familia, la familia Alu, que está presente en unas 500 000 copias de cada genoma haploide, o sea, en aproximadamente 10% del genoma humano. Los miembros de la familia Alu humana y sus análogos en otros animales se pueden transcribir como componentes integrales de los precursores de mRNA o como moléculas RNA separadas, incluyendo el bien estudiado RNA 4.5S y el RNA 7S. Los miembros de esta particular familia se encuentran altamente conservados tanto en el interior de cada especie, como entre las distintas especies de mamíferos. Los componentes de las repeticiones cortas intercaladas, incluidos los miembros de la familia Alu, pueden ser elementos móviles, tan capaces de saltar hacia dentro como hacia fuera de varios sitios dentro del genoma (véase posteriormente). Estos eventos de transposición pueden tener consecuencias desastrosas, como se ejemplifica a través de la inserción de secuencias Alu en un gen que, cuando está mutado, causa neurofibromatosis. Además, se ha demostrado que los RNA SINE Alu, B1 y B2 regulan la producción de mRNA en los niveles de transcripción y empalme de mRNA.

Secuencias repetidas de microsatélite

Una categoría de secuencias repetidas existe como disposiciones en tándem tanto dispersas como agrupadas. Las secuencias consisten de 2 a 6 pb repetido hasta 50 veces. Estas **secuencias de microsatélites** se encuentran más comúnmente como repeticiones de dinucleótidos de AC en una hebra y TG en la hebra opuesta; pero existen otras formas, incluyendo CG, AT y CA. Las secuencias de repetición AC se encuentran de 50 000 a 100 000 veces en el genoma. En cualquier *locus*, el número de estas repeticiones puede variar de uno a otro de los dos cromosomas, proporcionando así en cada individuo la heterocigosidad del número de copias de una secuencia microsatélite particular. Este es un rasgo hereditario, y debido a su número y a la facilidad para detectarlos usando la **reacción en cadena de la polimerasa** (**PCR**) (véase capítulo 39), tales repeticiones son útiles en la construcción de mapas de enlace genético. La mayoría de los genes están asociados con uno o más marcadores microsatélites, por lo que la posición relativa de los genes en los cromosomas puede ser evaluada, al igual que la asociación de un gen con una enfermedad. Usando PCR puede ser rápidamente evaluado un gran número de miembros de una familia para un determinado polimorfismo de microsatélite. La asociación de un polimorfismo específico con un gen en los miembros afectados de una familia –así como la falta de esta asociación en los miembros no afectados–, puede ser la primera pista para identificar la base genética de una enfermedad.

Las secuencias de los trinucleótidos que aumentan en número (inestabilidad de los microsatélites) pueden causar enfermedades. La secuencia repetida inestable $(CGG)_n$ está asociada con el síndrome X frágil. Otras repeticiones de trinucleótidos que experimentan mutación dinámica (usualmente un aumento) están asociadas con la corea de Huntington (CAG), la distrofia miotónica (CTG), la atrofia muscular espinobulbar (CAG) y la enfermedad de Kennedy (CAG). El advenimiento de tecnologías de secuenciación de DNA de última generación (véase capítulo 39) ha tenido un impacto relevante en la velocidad, la precisión y la exactitud con las cuales los científicos y médicos pueden analizar la estructura del genoma humano. Algunas pruebas clínicas recientemente instituidas implican la secuenciación de DNA genómico dirigido, a partir del análisis de tejidos o muestras de sueros.

EL UNO POR CIENTO DE DNA CELULAR SE ENCUENTRA EN LAS MITOCONDRIAS

La mayoría de los polipéptidos en las mitocondrias (alrededor de 54 de 67) están codificados por genes nucleares, mientras que el resto está codificado por los genes que se encuentran en el DNA mitocondrial (mt). Las mitocondrias humanas contienen de 2 a 10 copias de una pequeña molécula circular de dsDNA ~16 kbp que constituye aproximadamente 1% del DNA celular total. Este mtDNA codifica para RNA ribosómico y de transferencia específicos para mt y para 13 proteínas que desempeñan roles clave en la cadena respiratoria (véase capítulo 13). El mapa estructural linealizado de los genes mitocondriales humanos se muestra en la **figura 35-8**. Algunas de las características del mtDNA se muestran en el **cuadro 35-3**.

Una característica importante del mtDNA mitocondrial humano es que –debido a que todas las mitocondrias son aportadas por el óvulo durante la formación del cigoto– se transmite por herencia

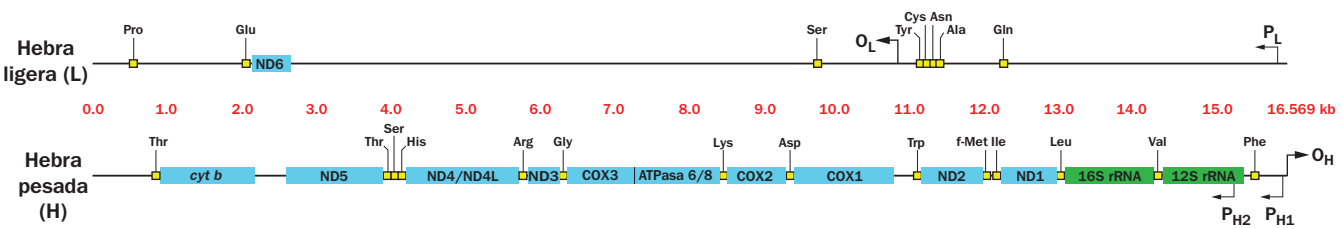


FIGURA 35-8 **Mapa de genes mitocondriales humanos.** Los mapas representan las llamadas hebras ligera (L, en la parte superior) y pesada (H, en la parte inferior) del DNA mitocondrial linealizado (mt) de 16 569 pares de bases. Los mapas muestran los genes mt que codifican las subunidades de la NADH-coenzima Q oxidorreductasa (ND1 a ND6), citocromo c oxidasa (COX1 a COX3), citocromo *b* (*cyt b*), ATP sintasa (ATPasa 6 y 8) y los rRNA ribosomales 12S y 16S mt. Los genes que codifican el RNA de transferencia de Mt (tRNA) están indicados por pequeños recuadros amarillos y el código de tres letras señala los aminoácidos afines que se especifican durante la traducción de MT. El origen de la replicación de DNA de hebra pesada (O_H) y hebra ligera (O_L), así como los promotores para el inicio de la transcripción de la hebra pesada (P_{H1} y P_{H2}) y de la hebra ligera (P_L) están indicados por flechas y letras (véase también la cuadro 57-3). Se trata de una figura generada usando la mitocondria de *Homo sapiens*, genoma completo; secuencia: NCBI; referencia: NC_012920.1 y anotaciones *in situ*.

CUADRO 35-3 Principales características del DNA mitocondrial humano

- Es circular, bicatenario, y está compuesto de cadenas pesadas (H) y ligeras (L)
- Contiene 16 569 pb
- Codifica 13 subunidades proteicas de la cadena respiratoria (de un total aproximado de 67)
  - Siete subunidades de NADH deshidrogenasa (complejo I)
  - Citocromo *b* del complejo III
  - Tres subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV)
  - Dos subunidades de ATP sintasa
- Codifica RNA ribosomales grandes (16S) y pequeños (12S) mt
- Codifica moléculas tRNA de 22 mt
- El código genético difiere ligeramente del código estándar
  - UGA (codón de detención estándar) se lee como Trp
  - AGA y AGG (codones estándar para Arg) se leen como codones de detención
- Contiene muy pocas secuencias no traducidas
- Alta tasa de mutación (5-10 veces mayor que la del DNA nuclear)
- Las comparaciones entre las secuencias de mtDNA proporcionan evidencia sobre los orígenes evolutivos de los primates y otras especies

Fuente: Adaptado de Harding AE. Neurological disease and mitochondrial genes. *Trends Neurol Sci* 1991;14:132. Copyright © 1991. Reimpreso con permiso de Elsevier.

materna no mendeliana. Por tanto, en enfermedades que son resultado de mutaciones de mtDNA, en teoría una madre afectada transmitiría la enfermedad a todos sus hijos; pero sólo sus hijas transmitirían el rasgo. Sin embargo, en algunos casos, las deleciones se producen en el mtDNA durante la ovogénesis y, por tanto, no se heredan de la madre. Recientemente se ha demostrado que hay varias enfermedades que se deben a mutaciones del DNA mitocondrial, entre ellas una variedad de miopatías, trastornos neurológicos y algunas formas de diabetes mellitus.

EL MATERIAL GENÉTICO PUEDE SER ALTERADO Y REORDENADO

Una alteración en la secuencia de las bases de purina y pirimidina en un gen debido a un cambio –una eliminación o una inserción– de una o más bases, puede dar como resultado un producto génico alterado o la alteración de la expresión génica si está involucrado DNA que no codifica proteína. Dichas inserciones o eliminaciones se denominan **indels**. A menudo los indels son el resultado de una **mutación** cuyas consecuencias se analizan detalladamente en el capítulo 37.

La recombinación cromosómica es una manera de reordenar el material genético

La información genética se puede intercambiar entre cromosomas similares u homólogos. El intercambio, o evento de **recombinación**, ocurre principalmente durante la meiosis en las células de mamíferos y requiere de la alineación de los cromosomas metafásicos homólogos, un alineamiento que casi siempre ocurre con gran exactitud. Se produce un proceso de cruzamiento como se muestra en la

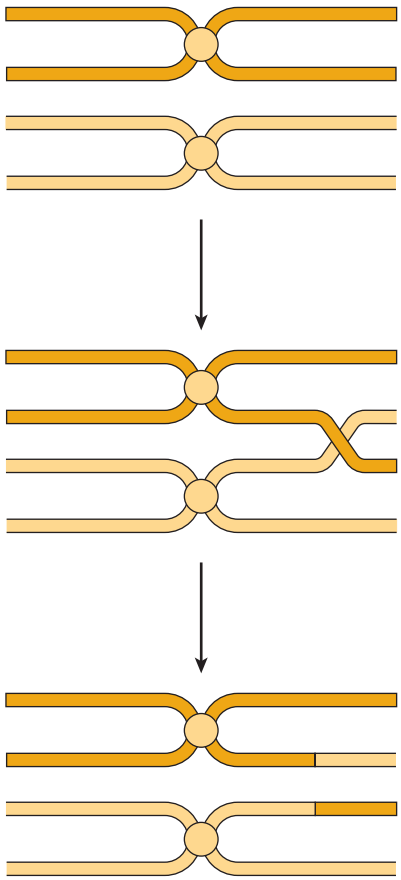


FIGURA 35-9 El proceso de cruzamiento entre cromosomas homólogos en metafase y la generación de cromosomas recombinados.

figura 35-9. Esto generalmente trae como resultado un intercambio igual y recíproco de información genética entre cromosomas homólogos. Si los cromosomas homólogos poseen diferentes alelos de los mismos genes, el cruzamiento puede producir diferencias apreciables de vinculación genética, y hereditarias. En el raro caso de que la alineación de los cromosomas homólogos no sea exacta, el evento de cruzamiento o recombinación puede dar como resultado un intercambio desigual de información. Un cromosoma puede recibir menos material genético y, por tanto, una eliminación, mientras que el otro compañero del par de cromosomas puede recibir más material genético y, por tanto, una inserción o una duplicación. Un ejemplo muy estudiado de cruzamiento desigual en los seres humanos implica a los genes de codificación de hemoglobinas. El cruzamiento desigual trae como resultados las hemoglobinopatías humanas denominadas Lepore y anti-Lepore (véase **figura 35-10**).

Cuanto más separados están dos genes en un cromosoma individual, mayor es la probabilidad de un evento de recombinación cruzada. Esta es la base de los métodos de mapeo genético. El **cruzamiento desigual** afecta a las series de DNA repetidos en tándem, si están relacionadas con genes de globina, como en la figura 35-10, o con el DNA repetitivo más abundante. El entrecruzamiento desigual a través de deslizamiento en la formación de pares puede traer como resultado la expansión o la contracción del número de copias de la familia repetida y puede contribuir a la expansión y a la fijación de miembros variantes a lo largo de la serie de repetición.

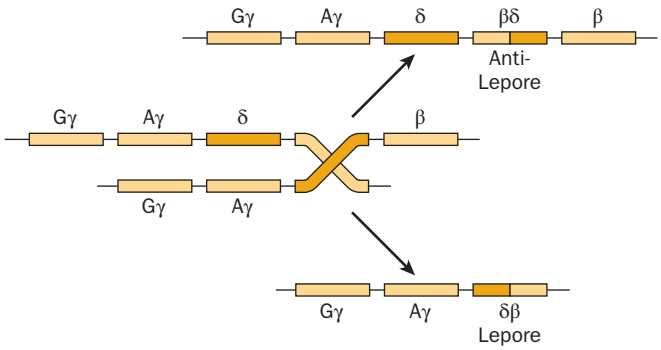


FIGURA 35-10 **El proceso de entrecruzamiento desigual en la región del genoma mamífero que alberga los genes estructurales que codifican las hemoglobinas y la generación de los productos recombinados desiguales hemoglobina delta-beta Lepore y beta-delta anti-Lepore**. Los ejemplos dados muestran las ubicaciones de las regiones de cruzamiento dentro de las regiones que codifican aminoácidos en los genes indicados (es decir, los genes de globina β y δ). (Redactado y reproducido, con permiso, de Clegg JB, Weatherall DJ. β⁰ Thalassemia: ¿time for a reappraisal? *Lancet* 1974;2:133. Copyright © 1974. Reimpreso con permiso de Elsevier).

La integración cromosómica se produce con algunos virus

Algunos virus bacterianos (bacteriófagos) son capaces de recombinarse con el DNA de un huésped bacteriano de tal manera que la información genética del bacteriófago se incorpora de forma lineal en la información genética del huésped. Esta integración, que es una forma de recombinación, ocurre a través del mecanismo ilustrado en la **figura 35-11**.

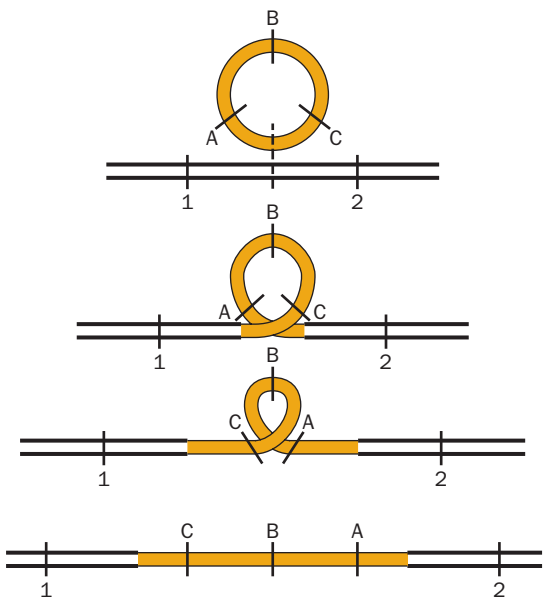


FIGURA 35-11 **La integración de un genoma circular de un virus (con los genes A, B y C) en la molécula de DNA de un huésped (con los genes 1 y 2) y el consecuente ordenamiento de los genes**.

La estructura del genoma del bacteriófago circularizado está roto, al igual que el de la molécula de DNA del huésped; los extremos apropiados se vuelven a sellar con la polaridad adecuada. El DNA del bacteriófago se endereza figurativamente ("linealizado") ya que se integra en la molécula de DNA bacteriana, que con frecuencia es también un círculo cerrado. El sitio en el cual el genoma del bacteriófago se integra o se recombina con el genoma bacteriano se elige mediante uno de dos mecanismos. Si el bacteriófago contiene una secuencia de DNA **homóloga** a alguna secuencia de la molécula de DNA del huésped, entonces puede producirse un evento de recombinación análogo al que ocurre entre los cromosomas homólogos. Sin embargo, algunos bacteriófagos sintetizan proteínas que unen en cromosomas bacterianos sitios específicos a un sitio **no homólogo** característico de la molécula de DNA del bacteriófago. La integración ocurre en el sitio y se plantea que es "**específica del sitio**".

Muchos virus animales, en particular los virus oncogénicos, ya sea directamente o, en el caso de virus RNA como el HIV que causa el AIDS, las transcripciones de DNA bicatenario generadas por la acción de la **DNA polimerasa dependiente del RNA** viral o la **transcriptasa inversa**, pueden estar integradas en los cromosomas de la célula de mamífero. La integración del DNA viral en el genoma de las células infectadas generalmente no es "específica para sitio", pero muestra las preferencias del sitio; tales inserciones pueden ser mutagénicas.

La transposición puede producir genes procesados

En las células eucariotas, pequeños elementos de DNA que claramente no son virus son capaces de transponerse por sí mismos adentro y afuera del genoma huésped en formas que afectan la función de las secuencias de DNA vecinas. Estos elementos móviles, a veces llamados "DNA saltador" o saltos de genes, pueden llevar regiones flanqueantes de DNA y, por tanto, pueden afectar profundamente la evolución. Como se mencionó anteriormente, la familia Alu, de secuencias de DNA repetidas moderadamente, tiene características estructurales que son similares a las terminales de los retrovirus, lo que debería explicar su capacidad de entrar y salir del genoma de los mamíferos.

Una evidencia directa de la transposición en el genoma humano de otros elementos pequeños del DNA ha sido proporcionada por el descubrimiento de "genes procesados" para moléculas de inmunoglobulinas, moléculas de α-globina, y muchas otras. Estos genes procesados consisten en secuencias de DNA idénticas o casi idénticas a los del RNA mensajero para el producto genético apropiado. Es decir, la región 5' no traducida, la región de codificación sin representación de intrón y la cola 3' poli (A) están todas presentes de forma contigua. Este particular ordenamiento de la secuencia de DNA debe haber sido resultado de la transcripción inversa de una molécula de ARN mensajero apropiadamente procesada, de la cual se habían eliminado las regiones del intrón y a la cual se había añadido la cola de poli (A). El único mecanismo reconocido de que esta transcripción inversa podría haberse utilizado para integrarse en el genoma era un evento de transposición. De hecho, estos "genes procesados" tienen en cada extremo repeticiones terminales cortas, al igual que las ya bien conocidas secuencias transpuestas en otros organismos. La ausencia de transcripción de muchos genes procesados y, por tanto, de selección genética que priorice su función, indica que han sido alterados aleatoriamente a través de la evolución para que ahora contengan codones sin senti-

do o que anulan su capacidad de codificar una proteína intacta funcional, incluso si pudieran ser transcritos (véase capítulo 37). Por tanto, ellos serán referidos como **"pseudogenes".**

La conversión de genes produce reordenamientos

Además del cruce desigual y la transposición, un tercer mecanismo puede efectuar cambios rápidos en el material genético. Secuencias similares de cromosomas homólogos o no homólogos pueden aparearse ocasionalmente y eliminar cualquier secuencia que implique algún grado de desacople entre ellos. Esto puede conducir a la fijación accidental de una u otra variante a lo largo de una familia de secuencias repetidas y, por esta vía, a la homogeneización de las secuencias de los miembros de familias de DNA repetitivas. Este proceso se conoce como **conversión de gen**.

El intercambio de cromátidas hermanas

En organismos eucarióticos diploides como el humano, después de que las células rebasan la fase S el contenido del DNA es (se vuelve) tetraploide. Esto se expresa en forma de cromátidas hermanas de los pares de cromosomas (véanse figura 35-6). Cada una de las cromátidas hermanas contiene idéntica información genética ya que cada una de estas cromátidas es un producto de la replicación semiconservativa de la molécula de DNA madre de ese cromosoma. Puede ocurrir el cruzamiento entre estas cromátidas hermanas genéticamente idénticas. Por supuesto, estos **intercambios de cromátidas hermanas** (véase **figura 35-12**) no tienen ninguna consecuencia genética siempre que el intercambio sea el resultado de un cruzamiento igual.

Reordenamiento de genes de inmunoglobulina

En las células de los mamíferos, algunos interesantes reordenamientos genéticos normalmente ocurren durante el periodo de desarrollo y la diferenciación. Por ejemplo, los genes V_L y C_L, que codifican respectivamente para la inmunoglobulina de cadena ligera G(IgG) variable (V_L) y porciones constantes(C_L) de la cadena ligera de IgG en una sola molécula de IgG (véase capítulos 38, 52), están ampliamente separados en la línea germinal de DNA. En el DNA de una célula diferenciada productora de IgG (plasma), los mismos genes VL y CL se han acercado físicamente y se han unido en el genoma formando una unidad de transcripción única. Pero aun así, este reordenamiento del DNA durante la etapa de diferenciación no trae aparejada la contigüidad de los genes VL y CL en el DNA. En cambio, en la unión de las regiones V y C o al menos cerca de ella, el DNA contiene un intrón de aproximadamente 1 200 pb. Esta secuencia de intrón es transcrita en el RNA junto con los exones VL y CL, mientras que es eliminada del RNA durante su procesamiento nuclear la información recombinada, la información intrínseca no secuenciada de IgG (véanse capítulos 36 y 38).

LA SÍNTESIS Y LA REPLICACIÓN DEL DNA ESTÁN RÍGIDAMENTE CONTROLADOS

La función principal de la replicación del DNA es proveer a la descendencia con la información genética de los progenitores. Por tanto, la replicación del DNA debe ser completa y llevarse a cabo de tal manera que se mantenga la estabilidad genética dentro del organismo y la especie. El proceso de replicación del DNA es complejo e involucra muchas funciones celulares y varios procedimientos de verificación que aseguran la fidelidad en la replicación. Hay alrededor de 30 proteínas involucradas en la replicación del cromosoma de la *Escherichia coli*, pero este proceso es más complejo en los organismos eucarióticos.

En todas las células, la replicación sólo puede ocurrir a partir de un molde de DNA de hebra simple (ssDNA). Por tanto, deben existir mecanismos para apuntar al sitio de iniciación de la replicación y para desenrollar el dsDNA en esa zona. El complejo de replicación, por tanto, debe formarse. Una vez completada la replicación en un área, las hebras madre e hija deben reformar el dsDNA. Pero en las células eucariotas debe ocurrir un paso adicional. El dsDNA debe reformar la estructura de la cromatina, incluida la estructura de los nucleosomas que existían antes del inicio de la replicación. A pesar de que aún no se comprende del todo este proceso completo en las células eucariotas, ya se ha logrado describir con bastante precisión la replicación en las células procariotas: los principios generales son los mismos en ambas. Los principales pasos se enumeran en el **cuadro 35-4**, son ilustrados en la **figura 35-13** y se analizan, en secuencia, a continuación. Una gran cantidad de proteínas, la mayoría con acción enzimática específica, están involucradas en este proceso (véase **cuadro 35-5**).

FIGURA 35-12 Los intercambios de cromátidas hermanas entre cromosomas humanos. Los intercambios entre los cromosomas de las células durante dos ciclos de replicación son detectables por el método de la tinción de Giemsa: ocurren en presencia de bromodesoxiuridina. Las flechas indican algunas regiones de intercambio. (Reimpreso con permiso de S Wolff y J Bodycote).

CUADRO 35-4 Etapas de la replicación del DNA en los organismos eucariotas

1. Identificación de los orígenes de la replicación
2. Desenrollado (desnaturalización) de dsDNA para proporcionar una plantilla de ssDNA
3. Formación de la horquilla de replicación; síntesis del cebador de RNA
4. Iniciación de la síntesis y el alargamiento del DNA
5. Formación de las burbujas de replicación con ligazón de los segmentos de DNA recientemente sintetizados
6. Reconstitución de la estructura de cromatina

El origen de la replicación

En el **origen de la replicación (ori, *origin of replication*)**, existe una asociación entre secuencias específicas de proteínas de unión a dsDNA y una serie de secuencias de DNA de repetición directa. En la *E. coli*, el oriC es unido por la proteína dnaA, que forma un complejo consistente en de 150 a 250 pb de DNA y multímeros de la proteína de unión al DNA. Esto conduce a la desnaturalización local y al desenrollamiento de una región de DNA adyacente rica en A + T. En células de levadura se han identificado **secuencias de replicación autónoma (ARS, *autonomously replicating sequences*)** o **replicadores** funcionalmente similares. El ARS contiene una secuencia de 11 pb un tanto degenerada llamada **elemento de origen de replicación (ORE, *origin replication element*)**. El ORE se une a un conjunto de proteínas análogas a la proteína dnaA de la *E. coli* que son denominadas en su conjunto complejo de reconocimiento de origen (ORC, *origin recognition complex*). Se han encontrado homólogos del ORC en todos los organismos eucariotas examinados. El ORE se encuentra localizado de forma adyacente a una secuencia rica en A + T de aproximadamente 80 pb que es fácil de desenrollar. Esto se llama **elemento de desenrollamiento del DNA (DUE, *DNA unwinding element*)**. El DUE es el origen de la replicación en las levaduras y está unido por el complejo de proteínas MCM.

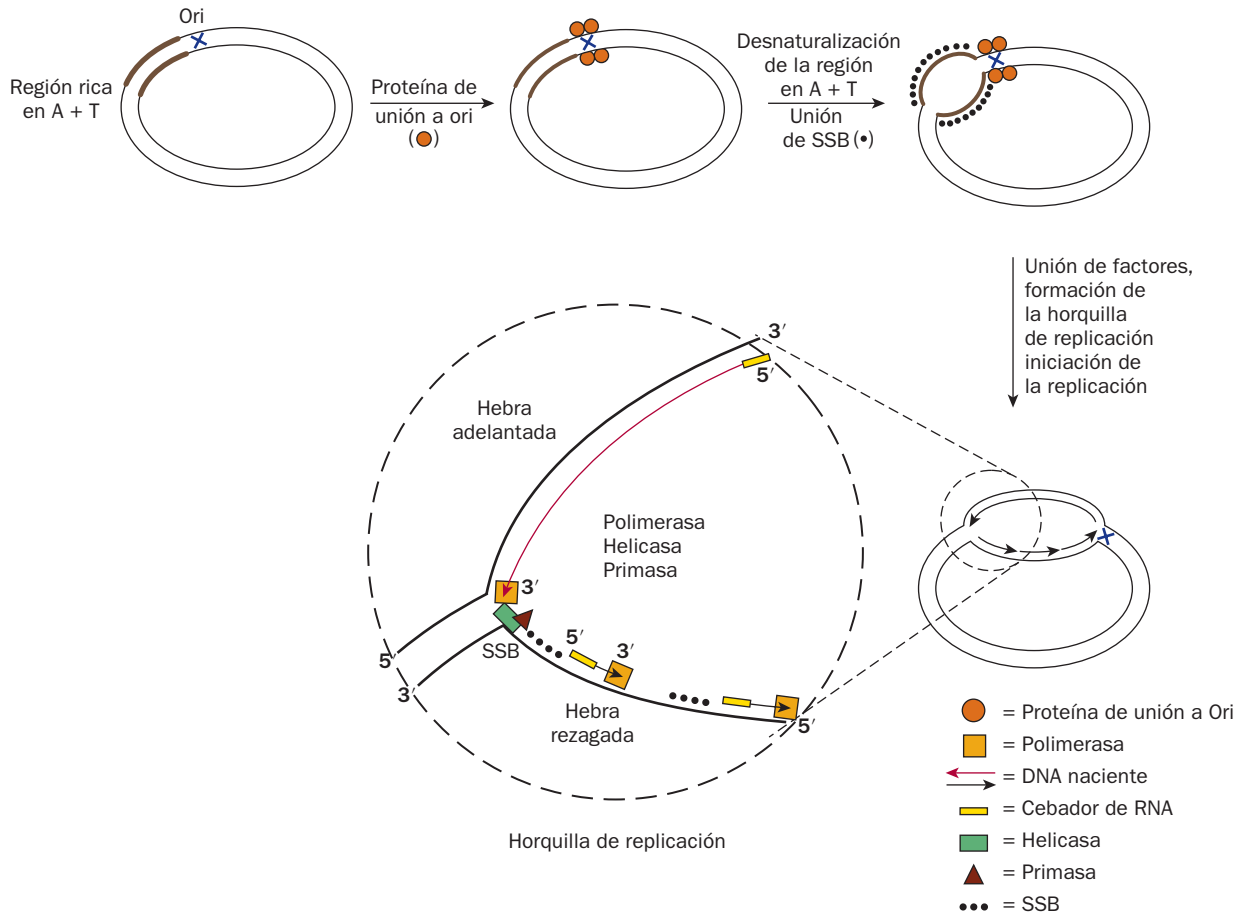


FIGURA 35-13 Etapas implicadas en la replicación del DNA. Esta figura describe la replicación del DNA en una célula de *E. coli*, pero los pasos generales son similares en los eucariotas. Una interacción específica de una proteína (la proteína dnaA) con el origen de la replicación (oriC) da como resultado el desenrollamiento local del DNA en una región adyacente rica en A + T. La acción de las proteínas unión de una sola hebra (SSBs, *single-strand-binding proteins*) garantiza que el DNA de esta área (ssDNA, *single-strand DNA*) mantenga la forma de una sola hebra. Esto permite que una variedad de proteínas, entre ellas la helicasa, la primasa y la DNA polimerasa, se unan e inicien la síntesis de DNA. Durante la síntesis de DNA la horquilla de replicación avanza de manera continua en la hebra delantera (flecha roja larga) y de manera discontinua en la hebra rezagada (flechas negras cortas). El DNA naciente siempre se sintetiza en la dirección 5' a 3', ya que las DNA polimerasas sólo pueden agregar un nucleótido al extremo 3' de una hebra de DNA.

CUADRO 35-5 Clases de proteínas involucradas en la replicación

Proteína	Función
DNA polimerasas	Polimerización de desoxinucleótidos
Helicasas	Desenrollamiento procesivo de DNA conducido por ATP
Topoisomerasas	Libera la tensión torsional que es resultado del desenrollamiento inducido por la helicasa
DNA primasas	Inicia la síntesis de cebadores de DNA
Proteínas de unión a una sola hebra (SSB)	Evitar cadenas de ssDNA de reasociación prematura para formar dsDNS
DNA ligasa	Sella el corte de una sola hebra entre la cadena naciente y los fragmentos de Okazaki en la hebra rezagada

Las secuencias que en los mamíferos son estructuralmente similares a ori o ARS aún no han sido delimitadas con precisión. Sin embargo, ya se han identificado varias de las proteínas que participan en el reconocimiento y función de ori y se ha podido comprobar que estas resultan ser bastante similares a sus equivalentes de la levadura tanto por su función como por su secuencia de aminoácidos.

Desenrollamiento de DNA

La interacción de proteínas con ori define el sitio de inicio de la replicación y proporciona una región corta de ssDNA esencial para el inicio de la síntesis de la hebra de DNA naciente. Este proceso requiere la formación de varias interacciones proteína-proteína y proteína-DNA. Un paso esencial, el desenrollamiento progresivo del DNA, es posible por la acción de una helicasa de DNA, y más específicamente, por un complejo de dnaB helicasa y proteína dnaC que es estabilizado por las proteínas de unión a DNA de una sola hebra (SSB).

Formación de la horquilla de replicación

Una horquilla de replicación consiste en la siguiente secuencia de pasos: 1) la helicasa de DNA desenrolla un segmento corto del doble DNA de origen; 2) las SSB se unen al ssDNA y previenen la reasociación prematura del ssDNA al dsDNA; 3) una primasa inicia la síntesis de una molécula de RNA que es esencial para preparar la síntesis de DNA; y 4) la DNA polimerasa inicia la síntesis de la hebra hija naciente.

La enzima DNA polimerasa III (el producto del gen *dnaE* en *E. coli*) se une al molde de DNA como parte de un complejo multiproteico que consiste en varios factores accesorios de la polimerasa (β', γ, δ, δ' y τ). Las DNA polimerasas sólo sintetizan DNA en la dirección de 5' a 3', y sólo uno de los varios tipos de polimerasas está involucrado en la horquilla de replicación. Debido a que las hebras de DNA son antiparalelas (véase capítulo 34), la polimerasa funciona asimétricamente. En la **hebra adelantada** (**avanzada**), el DNA se sintetiza continuamente. En la **hebra rezagada** (**hebra retrógrada**), el DNA se sintetiza en fragmentos cortos (1-5 kb; véase figura 35-16), los fragmentos de Okazaki, llamados así en honor al científico que los descubrió. Varios fragmentos de Okazaki (hasta 1 000) se deben sintetizar secuencialmente para cada horquilla de replicación. Para asegurarse de que esto suceda, la helicasa actúa sobre la hebra retrasada para desenrollar el dsDNA en una dirección 5´ a 3´. La helicasa se asocia con la primasa para proporcionar a este último acceso adecuado al molde. Esto permite que actúe el cebador de RNA y, a su vez, la polimerasa para comenzar a replicar el DNA. Esta es una secuencia de reacción importante ya que las DNA polimerasas no pueden iniciar la síntesis de DNA *de novo*. El complejo móvil entre helicasa y primasa se ha denominado **primosoma**. A medida que se completa la síntesis de un fragmento de Okazaki y se libera la polimerasa, se sintetiza un nuevo cebador. La misma molécula de polimerasa permanece asociada con la horquilla de replicación y avanza hacia la síntesis del siguiente fragmento de Okazaki.

El complejo DNA polimerasa

Varias moléculas de DNA polimerasa participan en la replicación del DNA. Estas comparten tres propiedades importantes: 1) **elongación de cadena**, 2) **procesividad** y 3) **corrección**. La elongación de la cadena representa la velocidad (en **nucleótidos por segundo, nt/s**) a la que se produce la polimerización. La procesividad es una expresión del número de nucleótidos añadidos a la cadena naciente antes de que la polimerasa se separe del molde. La función de corrección identifica y corrige los errores de copia. En la *E. coli*, el DNA polimerasa III (pol III) funciona en la horquilla de replicación. De todas las polimerasas, esta es la más procesiva y la que cataliza a una velocidad más alta de elongación de la cadena. Es capaz de polimerizar 0.5 Mb de DNA durante un ciclo en la hebra adelantada. En la *E. coli* la pol III es un gran complejo proteico multisubunitario (>1 MDa). DNA pol III se asocia con las dos subunidades β idénticas de la "pinza" deslizante del DNA; esta asociación aumenta drásticamente la estabilidad del complejo pol III-DNA, la procesividad (100 a > 50 000 nucleótidos) y la velocidad de elongación de la cadena (20-50 nt/s) generando el alto grado de procesividad que la enzima exhibe.

La polimerasa I (pol I) y la polimerasa II (pol II) están principalmente involucradas en la corrección y la reparación de DNA. Las células eucariotas tienen contrapartes para cada una de estas enzimas y una gran cantidad de DNA polimerasas adicionales involucradas en la reparación del DNA. En el cuadro 35.6 se muestra una comparación entre las polimerasas de ADN de organismos eucariotas y procariotas.

En las células de los mamíferos, el complejo de polimerasa es capaz de polimerizar a una velocidad que es algo más lenta que en las bacterias. Esta velocidad reducida puede ser el resultado de la interferencia por nucleosomas.

Iniciación y elongación de la síntesis de DNA

El inicio de la síntesis de DNA (véase **figura 35.14**) requiere de un cebado por cada longitud corta de RNA, de 10 a 200 nucleótidos de largo aproximadamente. En la *E. coli* esto es catalizado por la dnaG (primasa), en los eucariotas DNA pol α sintetiza estos cebadores de R. El proceso de cebado implica ataque nucleofílico por el grupo 3´-hidroxilo del cebador de RNA en el fosfato del primer trifosfato de desoxinucleósido que ingresa (*N* en la figura 35-14) con el fraccionamiento de pirofosfato; esta transición a la síntesis de DNA es catalizada por las DNA polimerasas apropiadas (DNA pol III en *E. coli*; DNA pol δ y ε en eucariotas). El grupo 3'-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosfato asociado recientemente es enton-

CUADRO 35-6 Una comparación entre los DNA polimerasas procariotas y eucariotas

E coli	Eucariota	Función
I		Resquicio llenado después de la replicación, reparación y recombinación de DNA
II		Corrección y reparación de DNA
	β	Reparación de DNA
	γ	Síntesis de DNA mitocondrial
III	ε	Síntesis de la hebra adelantada, procesiva
DnaG	α δ	Primasa Síntesis de la hebra rezagada, procesiva

ces libre de llevar a cabo un **ataque nucleofílico** en el siguiente ingreso de desoxirribonucleósido trifosfato (N + 1 en la figura 35-14), de nuevo en su fracción α fosfato, con el fraccionamiento del pirofosfato. Por supuesto, la selección del desoxirribonucleótido cuyo grupo 3'-hidroxilo terminal va a ser atacado depende del emparejamiento correcto de la base con la otra hebra de la molécula de DNA, según las reglas de emparejamiento de las bases de Watson y Crick (véase **figura 35-15**). Cuando una mitad de desoxirribonucleósido monofosforilo de adenina está en la posición del molde, un trifosfato de timidina entrará y su α fosfato será atacado por el grupo 3'-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosforilo agregado más recientemente al polímero. Mediante este proceso gradual, el molde dicta que el desoxirribonucleósido trifosfato es complementario y por la unión de hidrógeno lo mantiene en su lugar, mientras que el grupo 3'-hidroxilo de las hebras crecientes ataca e incorpora el nuevo nucleótido creciente en el polímero. Estos segmentos de DNA unidos a un componente cebador de RNA son los fragmentos de Okazaki (véase **figura 35-16**). En los mamíferos, después de que se generan muchos fragmentos de Okazaki, el complejo de replicación comienza a eliminar los cebadores de RNA, para llenar los resquicios que deja su remoción con el desoxinucleótido emparejado de base adecuada, y luego para sellar los fragmentos de los recién sintetizados DNA por enzimas denominadas **DNA ligasas**.

La replicación exhibe polaridad

Como ya se ha observado, las moléculas de DNA son de doble hebra y las dos hebras son antiparalelas. La replicación del DNA en los procariotas y los eucariotas ocurre simultáneamente en ambas hebras. Sin embargo, no existe en ningún organismo una enzima capaz de polimerizar DNA en la dirección 3' a 5', por lo que las dos hebras de DNA recién replicadas no pueden crecer en la misma dirección simultáneamente. En las bacterias la misma enzima replica ambas hebras al mismo tiempo (en los eucariotas, pol ε y pol δ catalizan la síntesis de las hebras adelantada y rezagada), véase el cuadro 35-6. La enzima única replica una hebra ("hebra adelantada") de manera casi continua en la dirección de 5´ a 3´ y replica la otra hebra ("hebra rezagada") de forma discontinua. Más específicamente la enzima única alterna replicar la hebra rezagada en breves impulsos de 150 a 250 nucleótidos con la polimerización de los nucleótidos en la dirección de 5' a 3' y el enfrentamiento con la parte posterior del cebador de RNA anterior en lugar de con el cebador de RNA de la parte aún no replicada. Este proceso de **síntesis semidiscontinua de DNA** se muestra en forma de diagrama en las figuras 35-13 y 35-16.

La formación de las burbujas de replicación

La replicación del cromosoma bacteriano circular, compuesto por aproximadamente 5×10^6 pb de DNA proviene de un solo ori. Este proceso se completa en 30 minutos aproximadamente, para una tasa de replicación de 3×10^5 bp/min. Sin embargo, el genoma completo de los mamíferos se replica en aproximadamente nueve horas, que es el periodo promedio requerido para la formación en una célula replicante de un genoma tetraploide a partir de un genoma diploide. Si un genoma de mamífero (3×10^9 bp) se replicara a la misma velocidad que un genoma bacteriano (es decir, a 3×10^5 bp/min) desde un solo ori, ¡la replicación demoraría más de 150 horas! Pero los organismos metazoarios evitan este problema usando dos estrategias. La primera es la replicación bidireccional; la segunda es que la replicación tiene orígenes múltiples en cada cromosoma (un total de hasta 100 en los humanos). Por tanto, la replicación ocurre en ambas direcciones a lo largo de todos los cromosomas y ambas hebras se replican simultáneamente. Este proceso de replicación genera las **"burbujas de replicación"** (véase **figura 35-17**).

Los múltiples sitios ori que sirven como puntos de origen de la replicación del DNA en los eucariotas están pobremente definidos con la excepción de algunos virus animales y las levaduras. Sin embargo, sí está claro que la iniciación está regulada tanto espacial como temporalmente, dado que los clústeres de sitios adyacentes inician la replicación de forma sincrónica. La activación de la replicación o iniciación de la replicación del DNA en un replicador/ori está influenciada por varias propiedades distintas y que apenas comienzan a entenderse de la estructura de la cromatina. A pesar de lo anterior, también está claro que hay un exceso de ORC y más replicadores que los necesarios para replicar el genoma de los mamíferos dentro del tiempo de una fase S típica. Por tanto, deben existir mecanismos que controlen este exceso de replicadores vinculados a ORC. De lo anterior se deriva que uno de los principales desafíos en este campo es comprender el control de la formación y el inicio de los complejos de replicación.

Durante la replicación del DNA, tiene que haber una separación de las dos hebras que permia que cada una sirva como molde para el hidrógeno que une sus bases de nucleótidos al desoxinucleósido trifosfato entrante. La separación de las hebras de DNA es promovida por **SSB** en *E. coli*, y una proteína denominada **proteína de replicación A (RPA, *replication protein A*) en eucariotas**. Estas moléculas estabilizan la estructura de una sola hebra mientras progresa la horquilla de replicación. Las proteínas estabilizadoras se unen cooperativa y estequiométricamente a las hebras individuales sin interferir en las habilidades de los nucleótidos para servir como moldes (véase figura 35-13). Además de separar las dos hebras de la doble hélice, tiene que haber un desenrollamiento de la molécula (una vez cada 10 pares de nucleótidos) para permitir la separación de la hebra.

El complejo proteico hexamérico DNAB desenrolla el DNA de la *E. coli*, mientras que el complejo proteico hexamérico MCM desenrolla el DNA eucariota. Este desenrollamiento ocurre en segmentos adyacentes a la burbuja de replicación. Para contrarrestar este desenrollamiento hay múltiples "giros" intercalados en las moléculas de DNA de todos los organismos. La función de girar es proporcionada por enzimas específicas que introducen "cortes" en

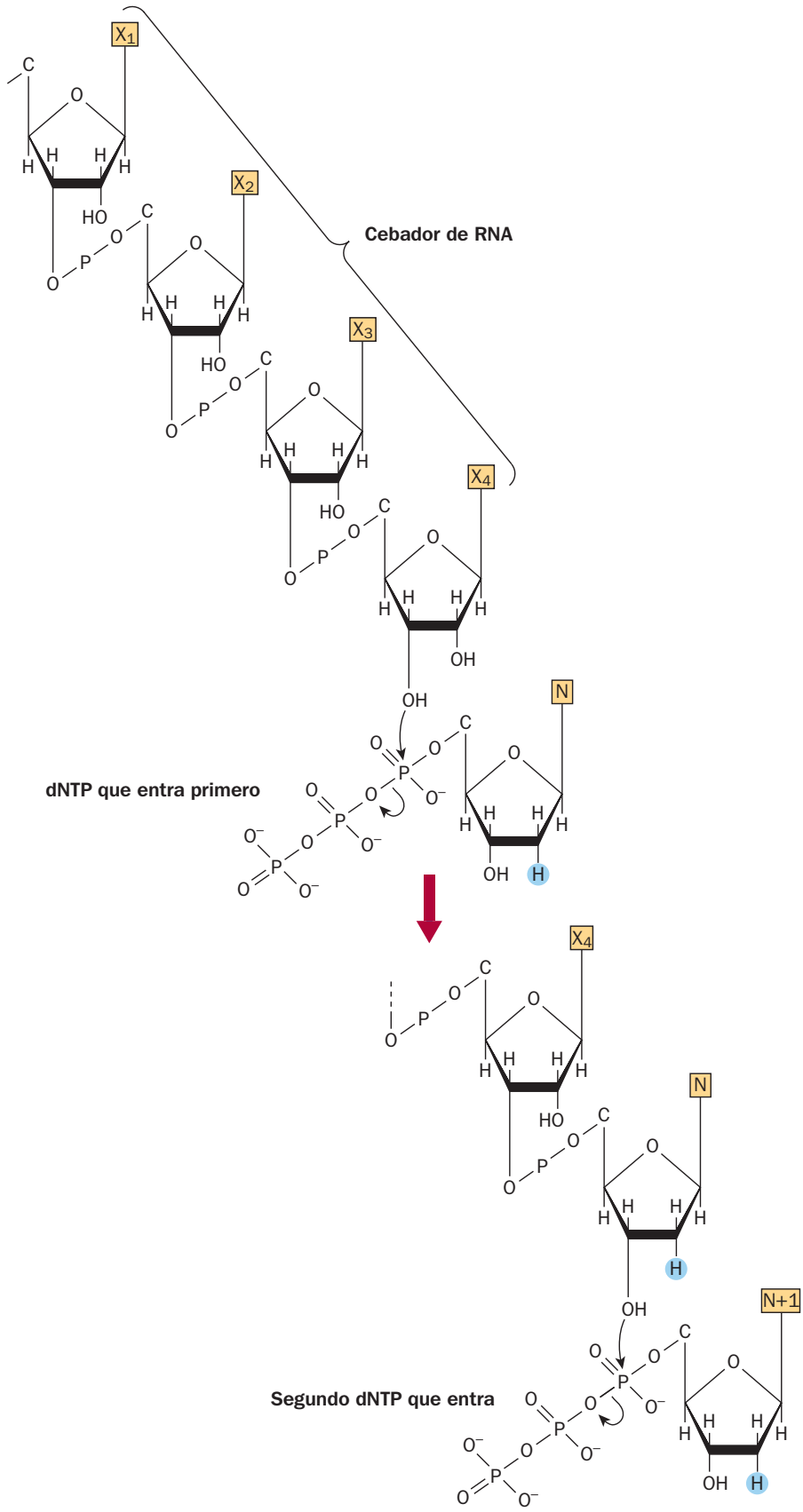


FIGURA 35-14 La iniciación de la síntesis de DNA sobre un cebador de RNA y el subsecuente acoplamiento del segundo desoxirribonucleótido trifosfato.

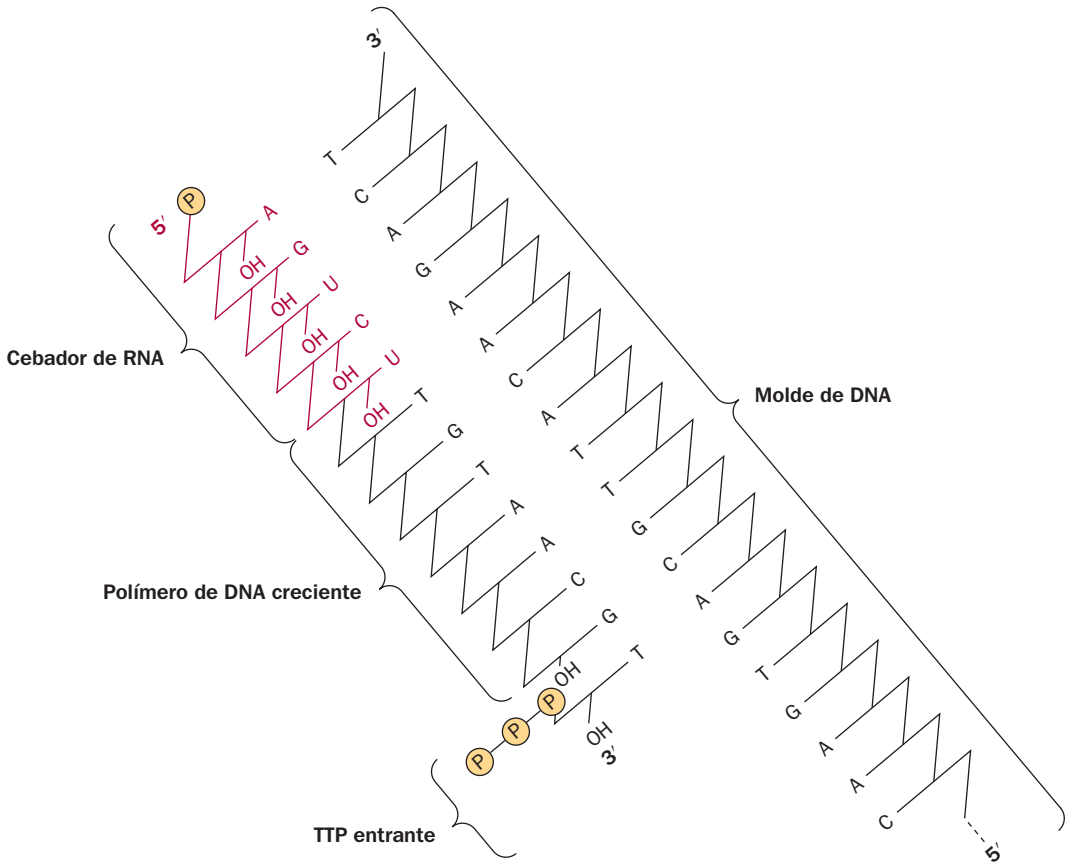


FIGURA 35-15 **La síntesis de DNA cebada con RNA que demuestra la función de plantilla de la cadena complementaria del DNA madre**.

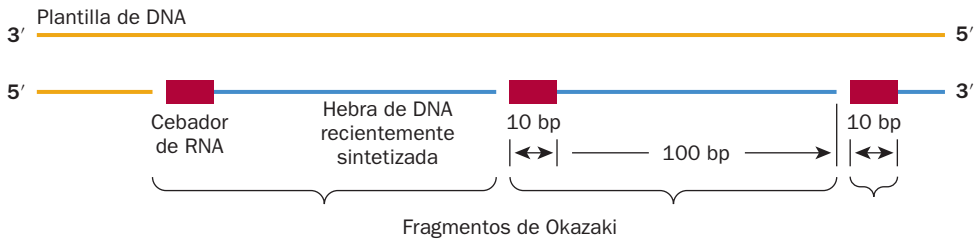


FIGURA 35-16 **La polimerización discontinua de desoxirribonucleótidos en la hebra rezagada; se ilustra la formación de fragmentos de Okazaki durante la síntesis de DNA de hebra rezagada**. Los fragmentos de Okazaki tienen de 100 a 250 nucleótidos de longitud en los eucariotas y de 1 000 a 2 000 nucleótidos en los procariotas.

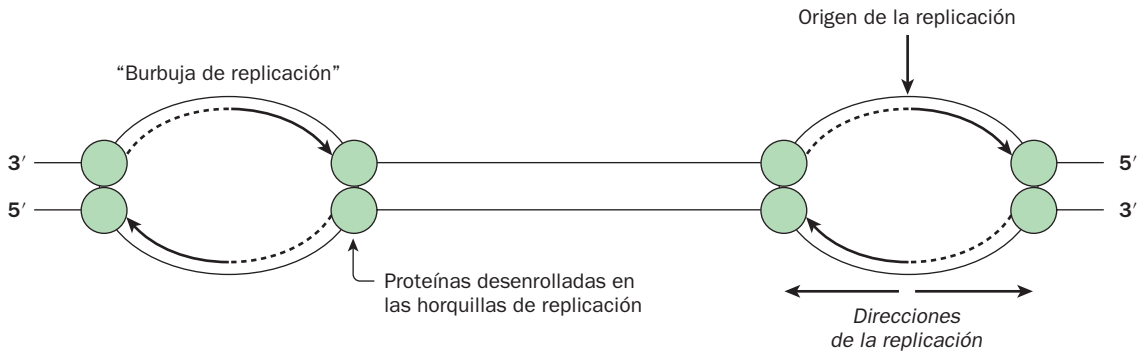


FIGURA 35-17 **La generación de las "burbujas de replicación" durante el proceso de síntesis de DNA.** Se ilustran la replicación bidireccional y las posiciones adelantadas de las proteínas de desenrollamiento en las horquillas de replicación.

una hebra de la doble hélice desenrollada para permitir que este proceso avance. Luego los cortes se cierran rápidamente sin requerir entrada de energía, debido a que se establece un enlace covalente fuerte entre el esqueleto del fosfodiéster cortado y la enzima de sellado del corte. Las enzimas que sellan el corte se llaman **DNA-topoisomerasas**. Este proceso se representa esquemáticamente en la **figura 35-18** y se compara con el sellado dependiente de ATP llevado a cabo por las ligasas de DNA (véase cuadro 39-2). Las topoisomerasas también son capaces de desenrollar el DNA superenrollado. El DNA superenrollado es una estructura de orden superior que se produce en moléculas circulares de DNA envueltas alrededor de un núcleo, como se muestra en las **figuras** 35-2 y **35-19**.

Existe en una especie de virus animal (los retrovirus) una clase de enzimas capaz de sintetizar una molécula de una sola hebra y luego una molécula de dsDNA a partir de un molde de RNA de una sola hebra. Esta polimerasa, denominada DNA polimerasa dependiente de RNA, o "**transcriptasa inversa**", sintetiza primero una molécula híbrida DNA-RNA utilizando el genoma de RNA como un molde. Una nucleasa específica codificada con un virus, la **RNasa H,** degrada la plantilla híbrida de la hebra de RNA. Posteriormen-

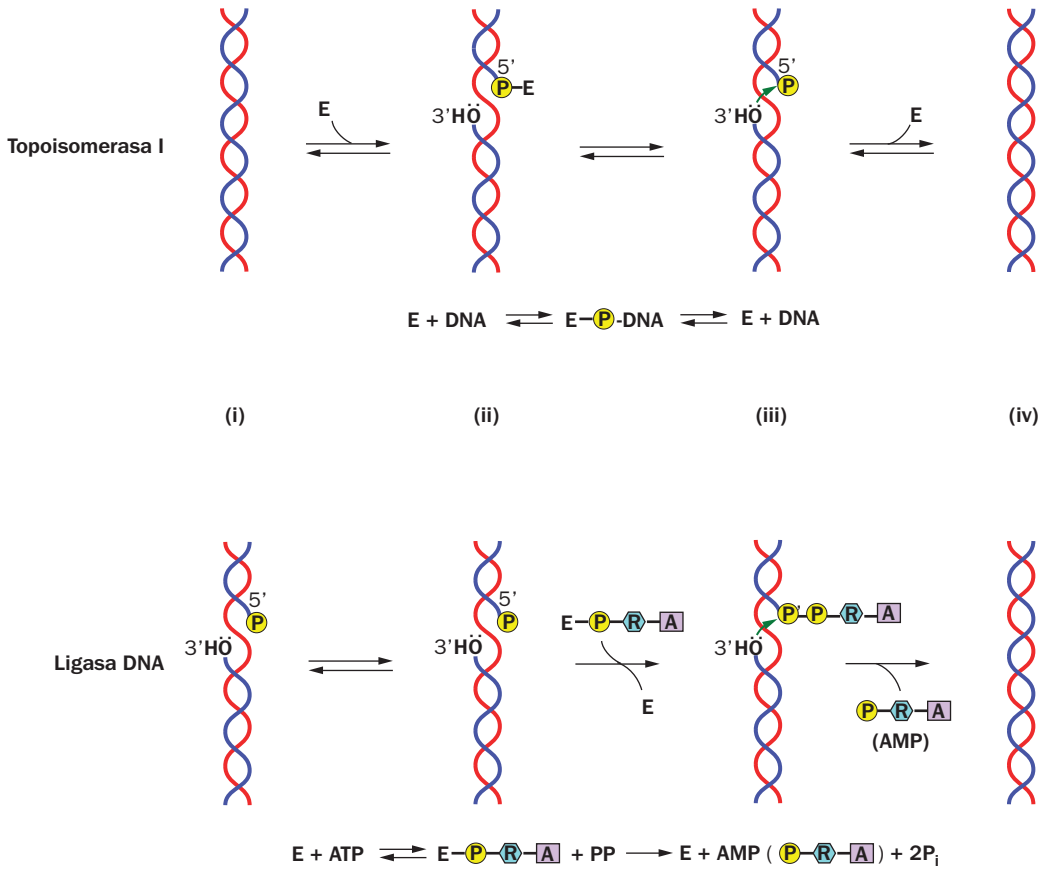


FIGURA 35-18 **Dos tipos de reacciones para el sellado del corte de DNA.** Se representan dos formas para sellado de corte: independiente de ATP (arriba) y dependiente de ATP (abajo). Los procesos para sellado de corte se realizan en varios pasos: (i)-substrato a → (iv)-producto. Las enzimas involucradas están indicadas por la E (arriba, abajo), mientras que los reactivos de molécula pequeña y los productos de molécula pequeña están indicados como fosfato (P); pirofosfato (PP), fosfato inorgánico (Pi) generado a partir de PP por la acción de las pirofosfatasas ubicuas, ribosa (R) y adenina (A). La reacción para sellado de corte en la parte superior está catalizada por el DNA topoisomerasa I y es independiente de la energía de ATP debido a que la energía para la reformación de los enlaces fosfodiéster del DNA se almacena en la unión covalente de la topoisomerasa I a DNA (P-E, arriba, paso ii). La regeneración de enlace se logra mediante el ataque nucleofílico del grupo 3'OH (flecha verde, etapa iii) al fosfato del complejo P-E. Esta reacción libera la topoisomerasa I (E) libre y el DNA de doble hebra intacto (etapa iv). La reacción enzimática general se esquematiza en la parte inferior de la figura (etapas I → iv). La reacción para sellado de corte catalizada por la DNA ligasa (parte inferior) repara las brechas del DNA de una sola hebra en el esqueleto del fosfodiéster que es un resultado de la replicación del DNA y/o la reparación del DNA (etapa i; parte inferior). La reacción completa del DNA ligasa requiere la hidrólisis de dos de los enlaces fosfodiéster de alta energía del ATP. El esquema de la reacción general del DNA ligasa y del sellado del corte, a la enzima-DNA vinculante, a la activación enzimática que libera pirofosfato (PP) para la liberación de la enzima libre, AMP y el DNA intacto se muestra (abajo, como se señala en el texto, PP se convierte rápidamente a 2 moles de Pi por acción de las pirofosfatasas ubicuas). La ligasa activada (E-P-R-A) reacciona con el 5' P en el sitio del corte para formar un complejo transitorio de DNA-P-P-R-A (nota: P-R-A = AMP) que libera a la enzima de DNA ligasa libre (E). El ataque nucleofílico del grupo 3'OH libre con el 5' P del complejo DNA-5'P-AMP (flecha verde, etapa iii) resella el corte y libera AMP. La reacción enzimática general que convierte el DNA cortado en DNA intacto (E + ATP → E + AMP + 2Pi) es ilustrado en la parte inferior de la figura (etapas I → iv).

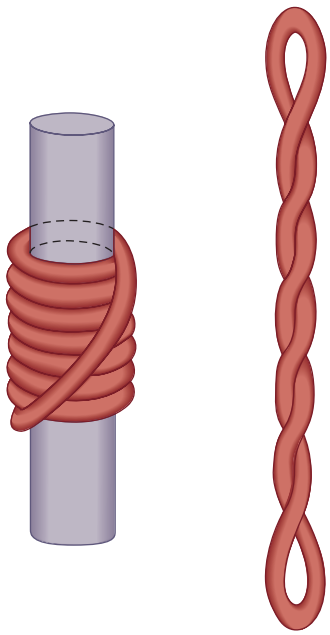


FIGURA 35-19 Superenrrollamiento de DNA. Un superenrrollado toroidal (solenoide), a la izquierda, se convertirá en una superenrrollado, a la derecha, cuando se retire el núcleo cilíndrico. Dicha transición es análoga a la que ocurre cuando los nucleosomas se alteran por la alta extracción de sal de las histonas de la cromatina.

te, la hebra de DNA restante sirve a su vez como molde para la formación una molécula de dsDNA que contiene la información genética originalmente presente en el genoma de RNA del virus animal. Los dsDNA resultantes pueden integrarse en el genoma del huésped.

Reconstitución de la estructura de cromatina

Existe evidencia de que la organización nuclear y la estructura de la cromatina están involucradas en la determinación de la regulación y el inicio de la síntesis de DNA. Como se indicó anteriormente, la velocidad de polimerización en las células eucariotas, que tienen cromatina y nucleosomas, es más lenta que en las células procariotas, que carecen de nucleosomas canónicos. También está claro que la estructura de la cromatina debe reformarse después de la replicación. EL DNA recién replicado se ensambla rápidamente en nucleosomas, y los octámeros de histonas preexistentes y recién ensamblados se distribuyen aleatoriamente en cada brazo de la horquilla de replicación. Estas reacciones son facilitadas por las acciones de las proteínas chaperonas de histona que trabajan en conjunto con el ensamblaje de cromatina y los complejos de remodelación.

La síntesis de DNA se produce durante la fase S del ciclo celular

En las células eucariotas, incluidas las células humanas, la replicación del genoma de DNA ocurre durante la vida de la célula sólo en un momento específico. Este periodo se conoce como **fase sintética o S** y generalmente está separado de forma temporal de la **fase mitótica o fase M**, por periodos no sintéticos llamados fases **gap 1** (G_1) y **gap 2** (G_2), que ocurren antes y después de la fase S, respectivamente (véase **figura 35-20**). Entre otras acciones, la célula se prepara para la síntesis de DNA en G_1 y para la mitosis en G_2. La célula regula la síntesis de DNA al permitir que se produzca sólo una vez por ciclo celular y sólo durante la fase S, en células que se preparan para dividirse mediante un proceso mitótico.

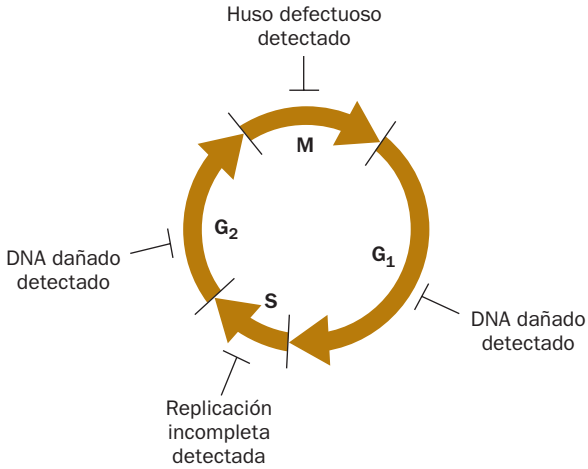


FIGURA 35-20 El progreso a través del ciclo celular de los mamíferos se monitorea continuamente a través de múltiples puntos de control del ciclo celular. La integridad del DNA, los cromosomas y la segregación de los cromosomas se controla continuamente durante todo el ciclo celular. Si se detecta daño en el DNA en la fase G_1 o G_2 del ciclo celular, si el genoma se replica de manera incompleta, o si el mecanismo de segregación cromosómica normal es incompleto (es decir, un huso defectuoso), las células no progresarán en la fase del ciclo en que los defectos son detectados. En algunos casos, si el daño no puede repararse, tales células sufren muerte celular programada (apoptosis). Téngase en cuenta que las células pueden abandonar de manera reversible el ciclo celular durante G_1 al ingresar a un estado no replicativo denominado G_0 (que no se muestra, pero véase la figura 9-8). Cuando se producen señales/condiciones apropiadas, las células vuelven a entrar en G_1 y progresan normalmente a lo largo del ciclo celular tal como se muestra.

Todas las células eucariotas tienen productos genéticos que rigen la transición de una fase del ciclo celular a otra. Las **ciclinas** son una familia de proteínas cuya concentración aumenta y disminuye en momentos específicos, es decir, su concentración "varía cíclicamente" durante el ciclo celular, de ahí su nombre. Las ciclinas activan, en el momento apropiado, diferentes **proteínas cinasas dependientes de ciclina (CDKs, *cyclin-dependent protein kinases*)** que fosforilan los sustratos esenciales para la progresión a través del ciclo celular (véase **figura 35-21**). Por ejemplo, los niveles de ciclina D aumentan en la última fase G_1 y permiten la progresión más allá del **inicio** (**levadura**) o **punto de restricción** (**mamíferos**), el punto más allá del cual las células irrevocablemente entran en la fase S o en la fase de síntesis de DNA.

Las ciclinas D activan CDK4 y CDK6. Estas dos cinasas también se sintetizan durante G_1 en células que experimentan división activa. Las ciclinas D y CDK4 y CDK6 son proteínas nucleares que se ensamblan como un complejo en la última fase G_1. El complejo ciclina-CDK es ahora una proteína cinasa serina-treonina activa. Un sustrato para esta cinasa es la proteína retinoblastoma (Rb, *retino-*

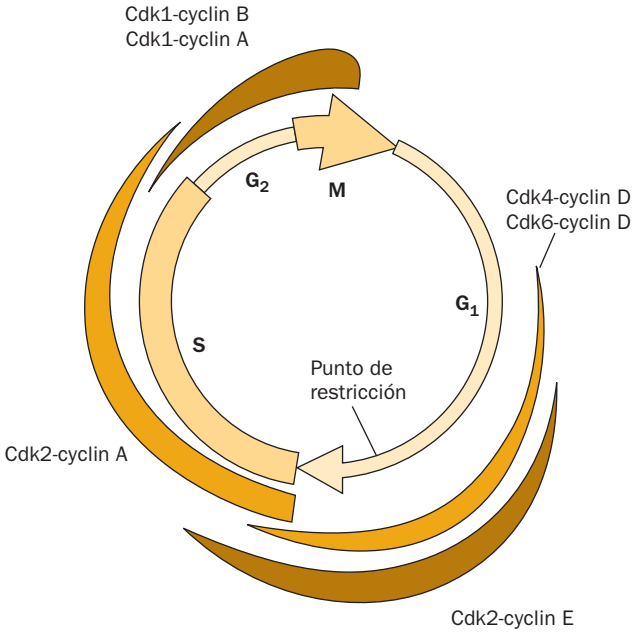


FIGURA 35-21 Ilustración esquemática de los puntos durante el ciclo celular de mamíferos durante el cual las ciclinas indicadas y las cinasas dependientes de ciclinas son activadas. El grosor de las líneas coloreadas es el indicador del grado de actividad.

blastoma). Rb es un regulador del ciclo celular porque se une e inactiva un factor de transcripción (E2F) necesario para la transcripción de ciertos genes (genes de histonas, proteínas de replicación del DNA, etc.) necesarios para la progresión de la fase G_1 a la fase S. La fosforilación de Rb por CDK4 o CDK6 da como resultado la liberación de E2F a partir de la represión de la transcripción mediada por Rb, por tanto, se produce la activación de la transcripción génica y tiene lugar la progresión del ciclo celular.

Otras ciclinas y CDK están implicadas en diferentes aspectos de la progresión del ciclo celular (véase **cuadro 35-7**). La ciclina E y CDK2 forman un complejo en G_1 tardío. La ciclina E se degrada rápidamente y la CDK2 liberada forma un complejo con la ciclina A. Esta secuencia es necesaria para el inicio de la síntesis de DNA en la fase S. Un complejo entre ciclina B y CDK1 limita la velocidad para la transición G_2/M en las células eucariotas.

Muchos de los virus causantes de cáncer (oncovirus) y los genes inductores de cáncer (oncogenes) son capaces de aliviar o alterar la restricción que normalmente controla la entrada de células de mamífero de la fase *G*1 a la fase S. De lo anterior se podría suponer que la producción excesiva de una ciclina, la pérdida de un inhibidor específico de CDK (véase a continuación) o la producción o activación de una ciclina/CDK en un momento inadecuado puede dar como resultado una división celular anormal o desenfrenada. De manera similar, las oncoproteínas (o proteínas transformantes) producidas por varios virus de DNA se dirigen al represor de la transcripción Rb para la inactivación, induciendo la división celular inapropiadamente, mientras que la inactivación de Rb, que es en sí mismo un gen supresor de tumores, conduce a un crecimiento celular descontrolado y a la formación de tumores.

Durante la fase S, las células de mamífero contienen mayores cantidades de DNA polimerasa que durante las fases no sintéticas del ciclo celular. Además, esas enzimas responsables de la formación de los sustratos para la síntesis de DNA, es decir, los desoxirribonucleósidos trifosfatos también aumentan su actividad, y su expresión disminuye después de la fase sintética hasta la reaparición de la señal para renovar la síntesis de DNA. Durante la fase S, el **DNA nuclear es completamente replicado una y sólo una vez**. Una vez que la cromatina ha sido replicada, es marcado para evitar su posterior replicación hasta que pasa nuevamente a través de la mitosis. Este proceso se denomina licencia de replicación. En células humanas los mecanismos moleculares para este fenómeno implican la disociación y/o fosforización de ciclina-CDK y la posterior degradación de varias proteínas de unión que desempeñan papeles esenciales en la formación del complejo de replicación. En consecuencia, las proteínas que inician la replicación se disparan sólo una vez por ciclo celular.

En general, un par dado de cromosomas se replicará simultáneamente y dentro de una porción fija de la fase S en cada replicación. En un cromosoma, los conjuntos de unidades de replicación se replican coordinadamente. Aún es desconocida la naturaleza de las señales que regulan la síntesis de DNA a estos niveles, pero la regulación parece ser una propiedad intrínseca de cada cromosoma individual que está mediada por los diversos orígenes de replicación contenidos en el mismo.

CUADRO 35-7 Ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas implicadas en la progresión del ciclo celular

Ciclina	Cinasa	Función
D	CDK4, CDK6	Progresión del último punto de restricción en la frontera G_1/S
E, A	CDK2	Iniciación de la síntesis de DNA en la fase S temprana
B	CDK1	Transición de G_2 a M

Todos los organismos contienen complejos mecanismos conservados evolutivamente para reparar DNA dañado

La reparación del DNA dañado es fundamental para mantener la integridad genómica y evitar así la propagación de mutaciones, ya sea horizontalmente (células somáticas) o verticalmente (células germinales). A diario el DNA es sujeto a una gran variedad de agresiones químicas, físicas y biológicas (véase **cuadro 35-8**), por tanto, es esencial el reconocimiento eficiente de lesiones en el DNA y su reparación. En consecuencia, las células eucariotas contienen cinco vías principales de reparación del DNA, cada una de las cuales contiene proteínas múltiples, a veces compartidas; estas proteínas de reparación de DNA típicamente tienen ortólogas en procariotas. Los mecanismos de reparación del DNA incluyen la **reparación por escisión de nucleótidos (NER, *nucleotide excision repair*)**; **errores de emparejamiento (MMR, *mismatch repair*)**; **reparación por escisión de base (BER, *base excision repair*)**; **recombinación homóloga (HR, *homologous recombination*)**; y vías de reparación de **unión final no homóloga (NHEJ, *non-homologous end-joining*)** (véase **figura 35-22**). La importancia para la biología humana de muchas de estas proteínas reparadoras del DNA ha sido puesta a prueba por las mutaciones naturales que se han producido en un gran número de estos genes y que han conducido a enfermedades humanas (véase cuadro 35-9). Por otra parte, los experimentos sis-

CUADRO 35-8 Tipos de daño al DNA

I. Alteración de una sola base
A. Depurinación
B. Desaminación de citosina a uracilo
C. Desaminación de adenina a hipoxantina
D. Alquilación de la base
E. Incorporación de bases análogas
II. Alteración de dos bases
A. Dímero de timina-timina (pirimidina) inducida por luz UV
B. Enlace cruzado de agente alquilante bifuncional
III. Rupturas de cadena
A. Radiación ionizante
B. Desintegración radiactiva del elemento central
C. Formación oxidativa de radicales libres
IV. Vinculación cruzada
A. Entre bases en hebras iguales u opuestas
B. Entre DNA y moléculas de proteínas (p. ej., histonas)

CUADRO 35-9 Enfermedades por defectos de reparación del daño del DNA de seres humanos

Reparación de las uniones defectuosas de extremos no homólogos (NHEJ, *Defective Nonhomologous End-Joining Repair*)
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada severa (SCID, *Severe combined immunodeficiency disease*)
Enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave sensible a la radiación (RS-SCID, *Radiation-sensitive combined immunodeficiency disease*)
Reparación homóloga defectuosa (HR)
Trastorno tipo AT (ATLD, *AT-like disorder*)
Síndrome de rotura de Nijmegen (NBS, *Nijmegen breakage syndrome*)
Síndrome de Bloom (BS, *Bloom syndrome*)
Síndrome de Werner (WS, *Werner syndrome*)
Síndrome de Rothmund-Thomson (*RTS, Rothmund-Thomson syndrome*)
Susceptibilidad al cáncer de mama 1 y 2 (BRCA1, BRCA2, *Breast cancer susceptibility 1 and 2*)
Reparación defectuosa por la escisión de nucleótido del DNA (NER, *Defective DNA Nucleotide Excision Repair*)
Xerodermia pigmentosa (XP, *Xeroderma pigmentosum*)
Síndrome de Cockayne (CS, *Cockayne syndrome*)
Tricotiodistrofia (TTD, *Trichothiodystrophy*)
Reparación defectuosa de escisión de base de DNA (BER, *Base Excision Repair*)
Poliposis asociada a MUTYH (MAP, *MUTYH-associated polyposis*)
Reparación por errores de emparejamiento de DNA defectuoso (MMR, *Defective DNA Mismatch Repair*)
Cáncer colorrectal hereditario sin poliposis (HNPCC, *Hereditary nonpolyposis colorectal cancer*)

temáticos (véase capítulo 39) con ratones de laboratorio y células en cultivo claramente han atribuido funciones esenciales de mantenimiento de la integridad del gen a estos genes. En estos estudios genéticos, se observó que, de hecho, las mutaciones provocadas dentro de estos genes inducen defectos en la reparación del DNA, mientras que a menudo también aumentan drásticamente la susceptibilidad al cáncer.

Uno de los mecanismos de reparación del DNA más intensamente estudiados es el mecanismo utilizado para reparar las **roturas de doble hebra del DNA** (**DSBs,** ***double strand breaks***); estos serán analizados aquí en detalle. Hay dos vías, **HR** y **NHEJ**, que las células eucariotas utilizan para eliminar DSB. La elección entre

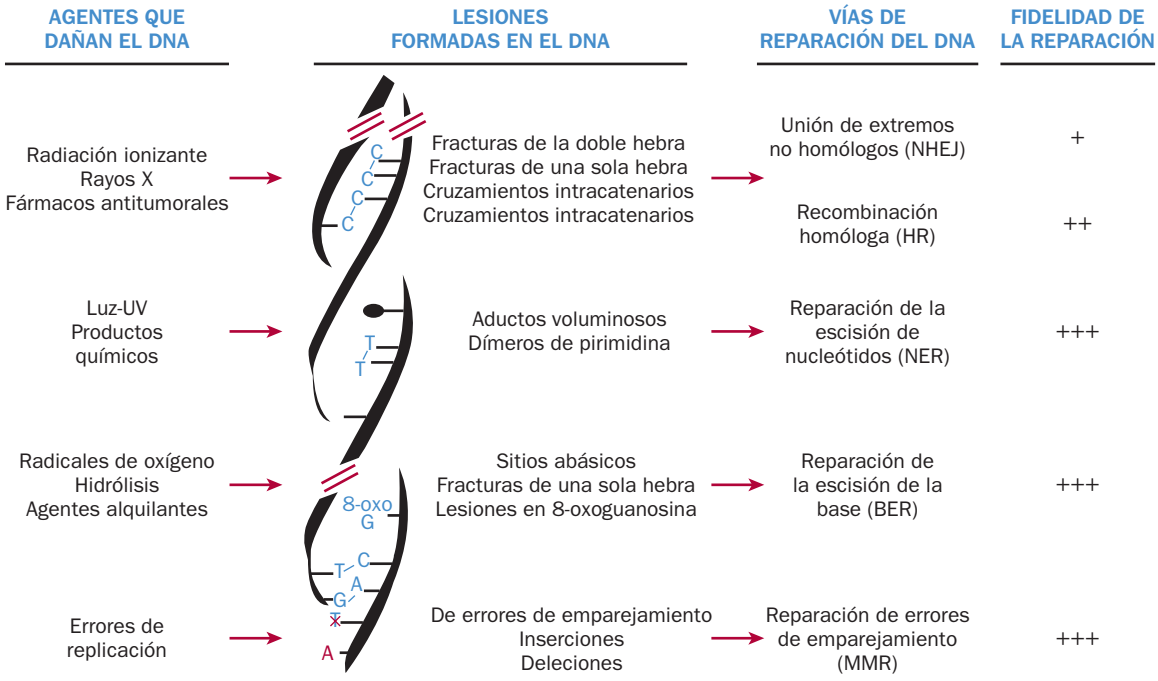


FIGURA 35-22 En los mamíferos existen vías múltiples y de precisión variable para la reparación de numerosas formas de daños a los que está sujeto el DNA genómico. Relación de los principales tipos de agentes que causan daño al DNA, de las lesiones al DNA (ilustradas y relacionadas), la vía de reparación del DNA responsable de la reparación de las diferentes lesiones, y la relativa fidelidad de estas vías. (Basado en DNA-damage response in tissue-specific and cancer stem cells. *Cell Stem Cell* 2011;16–29. Copyright © 2011). Reproducido con permiso de Elsevier Inc.

una y otra depende de la fase del ciclo celular (véanse figuras 35-20 y 35-21) y del tipo exacto de rupturas del DSB que deben repararse (véase **cuadro 35-8**). Durante las fases G_0/G_1 del ciclo celular, los DSB son corregidos por la vía NHEJ, mientras que durante las fases S, G_2 y M del ciclo celular se utiliza HR. Todas las etapas de la reparación del daño del DNA son catalizadas por moléculas evolutivamente conservadas, que incluyen **sensores de daño del DNA**, **transductores** y **mediadores de reparación de daños.** Estas cascadas de proteínas participan en la respuesta celular al daño del DNA. Es importante destacar que los resultados celulares finales del daño del DNA y los intentos celulares por reparar estos daños oscilan entre el **retraso del ciclo celular** para permitir la reparación del DNA, la **detención del ciclo celular**, y la **apoptosis** o **senescencia** (véase **figura 35-23;** mayor información posteriormente). Las moléculas implicadas en estos complejos y altamente integrados procesos incluyen:

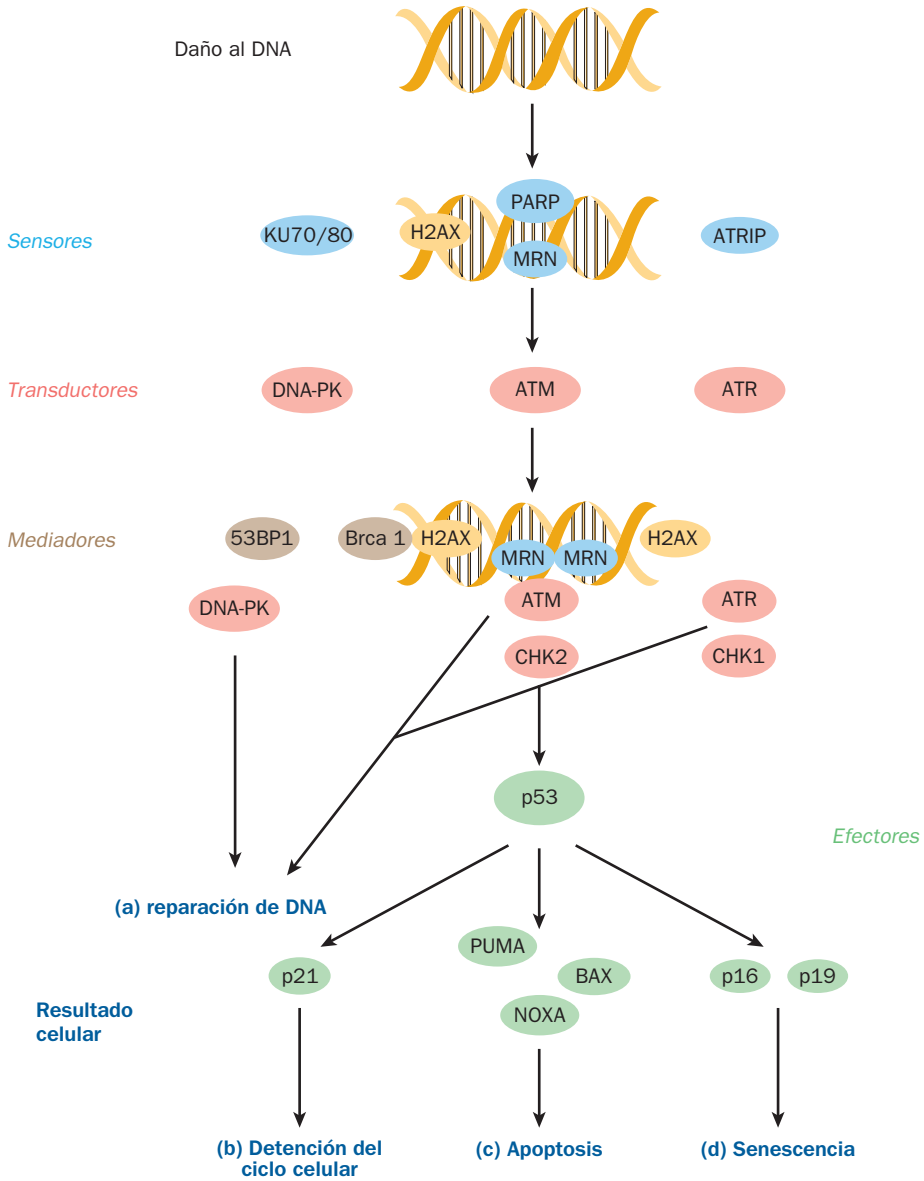


FIGURA 35-23 **El mecanismo de múltiples etapas de reparación de fracturas en la hebra doble del DNA.** Se muestran de arriba abajo las proteínas (complejos de proteínas) que identifican DSB en el DNA genómico (sensores), transducen y amplifican el daño reconocido del DNA (transductores y mediadores), así como las moléculas que dictan los últimos resultados de la respuesta al daño del DNA (efectores). El DNA dañado puede ser (a) directamente reparado (reparación de DNA), o, a través de vías mediadas por p53 y dependiendo de la severidad del daño del DNA y de los genes activados por p53 inducidos, (b) las células pueden ser detenidas en el ciclo celular por p21/WAF1 el potente inhibidor del complejo CDK–ciclina para dar tiempo para que el daño extensivo al DNA sea reparado, o (c), y (d) si la extensión del daño del DNA es demasiado grande para ser reparado, las células pueden entrar en apotopsis o senescencia; ambos de estos procesos previenen que el contenido celular tan dañado se divida y potencie induciendo cáncer u otros resultados biológicos nocivos. (Basado en DNA-damage response in tissue-specific and cáncer stem cells. *Cell Stem Cell* 2011; 8:16-29 copyright © 2011. Reproducido con permiso de Elsevier Inc).

- modificaciones de histonas específicas del daño (es decir, lisina dimetilada 20 histona H4: H4K20me2, *dimethylated* lysine 20 *histone* H4)
- la incorporación de variantes de isotipo de histona, como la histona H2AX en nucleosomas en el sitio del daño del DNA (véase cuadro 35- 1), la poli ADP ribosa polimerasa (PARP) y el complejo de proteína MRN (subunidades Mre11-Rad50-NBS1),
- las proteínas quinasas de señalización/reconocimiento activadas por daño a DNA (ATM [ataxia telangiectasia, mutada] y quinasa relacionada con ATM (ATR), la multiunidad de la proteína quinasa dependiente de DNA [DNA-PK y Ku70/80] y cinasas del punto de control 1 y 2[CHK1, CHK2]).

Estas múltiples cinasas fosforilan y, en consecuencia, modulan la actividad de docenas de proteínas, del mismo modo que numerosas reparaciones del DNA regulan el punto de control, y las proteínas de control del ciclo celular como CDC25A, B, C, Wee1, p21, p16, y p19 (todos los reguladores ciclina-CDK[véase figura 9–8; y debajo]; varias exo- y endonucleasas; proteínas de unión a DNA específico de una sola hebra[RPA]; PCNA y DNA polimerasas específicas [DNA pol δ y η]). Varios de estos tipos (tipos de) proteínas/enzimas han sido analizados anteriormente en el contexto de la replicación de DNA. La reparación del DNA y su relación con el control del ciclo celular son áreas de investigación muy activas por sus papeles centrales en la biología celular y su potencial para generar y potenciar el cáncer.

La integridad del DNA y de los cromosomas se monitorea de principio a fin del ciclo celular

Dada la importancia de la función de los cromosomas y del DNA normal para la sobrevivencia, no es sorprendente que las células eucariotas hayan desarrollado elaborados mecanismos para monitorear la integridad del material genético. Como se explicó anteriormente, un número de complejos sistemas enzimáticos de multisubunidades están implicados para reparar el DNA dañado en los niveles de secuencias de nucleótidos. De forma similar, también son monitoreados y reparados los percances de DNA en el nivel de los cromosomas. Como se muestra en la figura 35.20 la integridad tanto del DNA como de los cromosomas es continuamente monitoreada y reparada a través del ciclo celular. Las cuatro etapas específicas en las cuales este monitoreo se desarrolla han sido llamadas etapas de **regulaciones del punto de control.** Si se detectan problemas en algunos de estos puntos de control, es interrumpida la progresión del ciclo celular o el tránsito a través de él hasta que el daño ha sido reparado. Los mecanismos moleculares subyacentes a la detección del daño del DNA durante las fases G_1 y G_2 son mejor comprendidos que aquellos que operan durante las fases M y S.

El **supresor tumoral p53,** una proteína de MW aparente de 53 kDa en SDS-PAGE, desempeña una función clave en la regulación de los puntos de control G_1 y G_2. Normalmente una proteína muy inestable, p53, es un factor de trascripción de unión a DNA, un factor de una familia de proteínas relacionadas (es decir, p53, p63 y p73). P53 tiene la capacidad de estabilizar la transcripción cuando hay algún daño en el DNA, quizá por las interacciones directas DNA-p53. Como las histonas analizadas con anterioridad, p53 está sujeta a una panoplia de PTM reguladoras, todas las cuales probablemente modifican sus múltiples actividades biológicas. Niveles incrementados de p53 activan la transcripción de un conjunto de genes que sirven en conjunto para retrasar la transición a través del ciclo. Una de estas proteínas inducidas, p21, es un potente inhibidor de CDK-ciclina (CKI): es capaz de inhibir eficientemente todos los CDK y, por tanto, detendrá la progresión a través del ciclo celular. Claramente, la inhibición de CDK detendrá la progresión a través del ciclo celular (véanse figuras 35-20 y 35-21). Si el daño del DNA es demasiado extenso para ser reparado, las células afectadas se someterán a **apoptosis (muerte celular programada)** de una manera dependiente de p53. En este caso, p53 induce la activación de un grupo de genes que inducen apoptosis. Las células carentes de p53 funcional fallan para someterse a apoptosis en respuesta a altos niveles de radiación o a agentes quimioterapéuticos que actúan sobre el DNA. No debe sorprender entonces que *p53* sea uno de los genes más frecuentemente mutados en los cánceres humanos (véase capítulo 56). En efecto, estudios recientes de secuencias genómicas de DNA de muestras tumorales sugieren que más de 80% de los cánceres humanos tienen mutaciones por atrofia/pérdida de la funcionalidad de p53. Futuras investigaciones complementarias sobre los mecanismos de regulación del punto de control demostrarán serán muy valiosas para el desarrollo de opciones terapéuticas efectivas contra el cáncer.

RESUMEN

- El DNA en las células eucariotas está asociado con una variedad de proteínas, lo que da como resultado una estructura llamada cromatina.
- Gran parte del DNA se asocia con proteínas de histonas para formar una estructura llamada nucleosoma. Los nucleosomas se componen de un octámero de histonas alrededor del cual se envuelve aproximadamente 150 pb de DNA.
- Las histonas están sujetas a una amplia gama de modificaciones covalentes dinámicas que tienen importantes consecuencias regulatorias.
- Los nucleosomas y las estructuras de orden superior formadas a partir de ellos tienen la función de compactar el DNA.
- El DNA de regiones transcripcionalmente activas es relativamente más sensible al ataque de las nucleasas *in vitro*. Algunas regiones, los denominados sitios hipersensibles a menudo funcionan como contención de los sitios de control de la transcripción.
- El DNA muy activo en el aspecto transcripcional (los genes) a menudo se agrupa en regiones específicas de cada cromosoma. En estas regiones, los genes pueden separarse mediante DNA inactivo en estructuras nucleosómicas. En muchas unidades de transcripción eucariota (es decir, la porción de un gen que se copia por RNA polimerasa) consiste a menudo en regiones de codificación de DNA (exones) interrumpidas por secuencias intermedias de DNA no codificante (intrones). Esta observación es particularmente válida para los genes que codifican mRNA.
- Después de la transcripción y durante el procesamiento del RNA, los intrones se eliminan y los exones se unen para formar el mRNA maduro que aparece en el citoplasma; este proceso se denomina empalme de RNA.
- El DNA en cada cromosoma es exactamente replicado durante la fase S del ciclo celular de acuerdo con reglas de la formación de pares de bases.
- Cada hebra de la doble hélice es replicada simultáneamente a través de diferentes mecanismos. Un complejo de proteínas, incluida la DNA polimerasa, replica la hebra adelantada en la dirección 5' a 3' y de forma continua. La hebra rezagada se replica discontinuamente, en piezas cortas de 150 a 250 nucleótidos, en la dirección 3’ a 5'.

- La replicación del DNA se inicia en los sitios especiales denominados orígenes que generan las burbujas de replicación. Cada cromosoma eucariota contiene múltiples orígenes. Todo el proceso tiene lugar en alrededor de 9 horas en una célula humana típica pero solamente ocurre durante la fase S del ciclo celular.
- Una variedad de mecanismos que emplean diferentes sistemas de enzimas reparan el ADN celular dañado después de la exposición de las células a mutágenos químicos y físicos.
- Las células normales que contienen DNA que no se pueden reparar experimentan muerte celular programada.

REFERENCIAS

Braunschweig U, Gueroussov S, Plocik AM, Graveley BR, Blencowe BJ. Dynamic integration of splicing within gene regulatory pathways. *Cell* 2013;152:1252.

Burgers PMJ, Kunkel TA. Eukaryotic DNA replication fork. Annu. *Rev Biochem* 2017;86:417.

Chabot B, Shkreta L. Defective control of pre-messenger RNA splicing in human disease. *J Cell Biol* 2016;212:13.

Dominguez-Brauer C, Thu KL, Mason, JL, Blaser H, Bray MR, Mak TM. Targeting mitosis in cancer: emerging strategies. *Mol Cell* 2015;-60:524.

Hills SA, Diffley JFX. DNA replication and oncogene-induced replicative stress. *Curr Biol* 2014;24:R435.

Kunkel TA. Celebrating DNA's repair crew. *Cell* 2015;163:1301.

Naftelberg S, Schor IE, Ast G, Kornblihtt AR. Regulation of alternative splicing through coupling with transcription and chromatin structure. *Ann Rev Biochem* 2015;84:165.

Neupert W. Mitochondrial gene expression: a playground of evolutionary tinkering. *Ann Rev Biochem* 2016;85:65.

Pozo K, Bibb JA. The Emerging role of Cdk5 in cancer. *Trends Cancer* 2016; 2:606.

Sabari BR, Zhang D, Allis CD, Zhao Y. Metabolic regulation of gene expression through histone acylations. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18:90.

Salazar-Roa M, Malumbres M: Fueling the cell division cycle. *Trends Cell Biol* 2017;27:69.

Smith OK, Aladjem MI. Chromatin structure and replication origins: determinants of chromosome replication and nuclear organization. *J Mol Biol* 2014;426:3330.

Tang YC, Amon A. Gene copy-number alterations: a cost-benefit analysis. *Cell* 2013;152:394.

CAPÍTULO

36

Síntesis, procesamiento y modificación del RNA

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las moléculas involucradas y el mecanismo de síntesis del ácido ribonucleico (RNA, *Ribonucleic acid*).
- Explicar cómo las RNA polimerasas dependientes del ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid)* eucariotas, en colaboración con una serie de factores accesorios específicos, pueden transcribir diferencialmente el DNA genómico para producir moléculas precursoras específicas de RNA mensajero (mRNA, *messenger RNA*).
- Describir la estructura de los precursores del mRNA eucariótico, que están altamente modificados internamente y en ambos extremos.
- Apreciar el hecho de que la mayoría de los genes que codifican al mRNA de mamífero están interrumpidos por múltiples secuencias codificantes no proteicas denominadas intrones, que están intercaladas entre las regiones codificantes de proteínas llamadas exones.
- Explicar que, dado que el intrón RNA no codifica proteína, el RNA intrónico debe ser eliminado de forma específica y precisa para generar mRNA funcionales a partir de las moléculas precursoras de mRNA en una serie de eventos moleculares precisos denominados empalme de RNA.
- Explicar los pasos y las moléculas que catalizan el empalme del mRNA, un proceso que convierte las moléculas precursoras modificadas en mRNA que son funcionales para la formación de la nueva proteína.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La síntesis de una molécula de RNA a partir de DNA eucariótico es un proceso complejo que involucra a uno de los grupos de enzimas RNA polimerasa dependientes de DNA y un número de proteínas asociadas. Los pasos generales necesarios para sintetizar la transcripción primaria son iniciación, elongación y terminación. La iniciación es el paso del que más se conoce. Se han identificado varias regiones de DNA (generalmente localizadas cadena arriba del sitio de iniciación) y factores de proteína que se unen a estas secuencias para regular el inicio de la transcripción. Ciertos RNA-mRNA en particular tienen periodos de vida muy diferentes en una célula. Las moléculas de RNA sintetizadas en células de mamífero se preparan como moléculas precursoras que tienen que procesarse en RNA activo maduro. Es importante entender los principios básicos de la síntesis y el metabolismo del RNA mensajero (mRNA), ya que la modulación de este proceso da como resultado tasas alteradas de síntesis de proteínas y, por tanto, una variedad de cambios fenotípicos celulares. Así es como todos los organismos se adaptan a los cambios del entorno. También es cómo se establecen y mantienen las estructuras y funciones celulares diferenciadas. Los errores o cambios en la síntesis, procesamiento, empalme, estabilidad o función de las transcripciones de mRNA implican una causa de enfermedad.

EL RNA EXISTE EN DOS CLASES PRINCIPALES

Todas las células eucariotas tienen dos clases principales de RNA (**cuadro 36-1**), los **RNA codificantes de proteínas** o **mRNA** y dos formas de **RNA no proteicos** abundantes deslindadas sobre la base del tamaño: los RNA ribosómicos grandes (**rRNAs, *ribosomal RNAs***) y los RNA largos no codificantes (**lncRNAs, *long noncoding RNAs***) y RNA de transferencia pequeños no codificantes (**tRNAs, *transfer RNAs***), los RNA pequeños nucleares (**snRNAs, *small nuclear RNAs***) y los micro RNA y silenciadores (**miRNAs** y **siRNAs, *micro and silencing RNAs***). Los mRNA, rRNA y tRNA

CUADRO 36-1 Tipos de RNA eucariota

RNA	Tipos	Abundancia	Estabilidad
RNA de codificación de proteínas			
Mensajero (mRNA)	$\geq 10^5$ diferentes especies	2-5% del total	De inestable a muy estable
RNA de codificación no proteica (ncRNA)			
NcRNA grandes			
Ribosomal (rRNA)	28S, 18S	80% del total	Muy estable
lncRNA	~1 000s	~1%-2%	De inestable a muy estable
Pequeños ncRNA			
Pequeños RNA ribosomales	5.8S, 5S	~2%	Muy estable
Transfiere RNA	~60 diferentes especies	~15% del total	Muy estable
RNA pequeño nuclear (snRNA)	~30 diferentes especies	≤1% del total	Muy estable
Micro/silencioso (mi/SiRNA)	100s-1 000	<1% del total	Estable

están directamente implicados en la síntesis de proteínas, mientras que los otros RNA participan en el corte y empalme de mRNA (snRNA) o la modulación de la expresión génica alterando la función de mRNA (mi/siRNA) y/o expresión (lncRNA). Estos RNA se diferencian en su diversidad, estabilidad y abundancia en las células.

EL RNA SE SINTETIZA A PARTIR DE UNA PLANTILLA DE DNA POR UNA RNA POLIMERASA

Los procesos de síntesis de DNA y RNA son similares porque implican 1) los pasos generales de iniciación, elongación y terminación con 5'-3' de polaridad; 2) complejos de iniciación y polimerización grandes y multicomponentes; y 3) adherencia a las reglas de emparejamiento de bases de Watson-Crick. Sin embargo, la síntesis de DNA y RNA difiere de varias maneras importantes, incluyendo las siguientes: 1) se usan ribonucleótidos en la síntesis de RNA en lugar de desoxirribonucleótidos; 2) U reemplaza a T como la base complementaria para A en el RNA; 3) un cebador no está implicado en la síntesis de RNA ya que las RNA polimerasas tienen la capacidad de iniciar la síntesis *de novo*; 4) en una célula determinada, sólo partes del genoma se transcriben o copian enérgicamente en RNA, mientras que el genoma completo debe copiarse, una vez y sólo una vez durante la replicación del DNA; y 5) no hay una función de corrección de pruebas muy activa y eficiente durante la transcripción.

El proceso de sintetizar RNA a partir de una plantilla de DNA se ha caracterizado mejor en procariotas. Aunque en las células de mamífero, la regulación de la síntesis de RNA y el procesamiento de las transcripciones de RNA son diferentes de las procariotas, el proceso de síntesis de RNA *per se* es bastante similar en estas dos clases de organismos. Por tanto, la descripción de la síntesis de RNA en procariotas, donde se entiende mejor, es aplicable a eucariotas a pesar de que las enzimas involucradas y las señales reguladoras, aunque relacionadas, son diferentes.

Transcripción de la hebra plantilla de DNA

La secuencia de ribonucleótidos en una molécula de RNA es complementaria a la secuencia de desoxirribonucleótidos en una hebra de una molécula de DNA de doble hebra (véase la figura 34-8). La hebra que se transcribe o copia en una molécula de RNA se denomina **hebra plantilla** de DNA. La otra hebra de DNA, la **hebra no plantilla**, se denomina con frecuencia **hebra de codificación** de ese gen. Se llama así porque, con la excepción de T para los cambios en U, corresponde exactamente a la secuencia del transcrito primario del mRNA, que codifica el producto (proteína) del gen. En el caso de una molécula de DNA de doble hebra que contiene muchos genes, la hebra plantilla para cada gen no será necesariamente la misma hebra de DNA doble hélice (**figura 36-1**). Por tanto, una hebra dada de una molécula de DNA de doble hebra servirá como la hebra plantilla para algunos genes y la hebra codificante de otros genes. Téngase en cuenta que la secuencia de nucleótidos de un transcrito de RNA será la misma (excepto que U reemplaza a T) como la de la hebra codificante. La información en la hebra plantilla se obtiene en la dirección 3'-5'. Aunque no se muestra en la figura 36-1, hay ejemplos de genes incrustados en otros genes.

La RNA polimerasa dependiente de DNA se une a un sitio diferente, el promotor, e inicia la transcripción

La RNA polimerasa dependiente del DNA (RNAP, *RNA polymerase*) es la enzima responsable de la polimerización de los ribonucleótidos en una secuencia complementaria a la hebra plantilla del gen (**figuras 36-2** y **36-3**). La enzima se une a un sitio específico, el

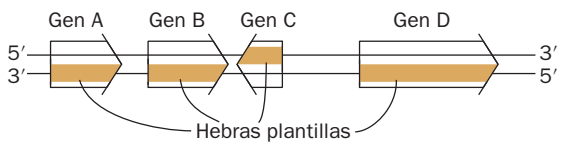


FIGURA 36-1 Los genes se pueden transcribir de ambas hebras de DNA. Las puntas de flecha indican la dirección de la transcripción (polaridad). Tenga en cuenta que la hebra plantilla siempre se lee en la dirección 3'-5'. La hebra opuesta se denomina hebra codificante porque es idéntica (exceptuando a T para cambios en U) a la transcripción de mRNA (la transcripción primaria en células eucariotas) que codifica el producto proteico del gen.

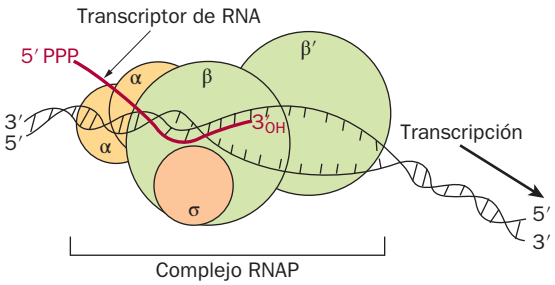


FIGURA 36-2 **La RNA polimerasa cataliza la polimerización de ribonucleótidos en una secuencia de RNA que es complementaria a la hebra plantilla del gen.** La transcripción de RNA tiene la misma polaridad (5' - 3') que la hebra codificante, pero contiene U en lugar de T. El RNAP bacteriano consiste en un complejo central de dos subunidades β (β y β') y dos subunidades α. La holoenzima contiene la subunidad σ unida al conjunto de centro $\alpha_2\beta\beta'$. La subunidad ω no se muestra. La "burbuja" de transcripción es un área de aproximadamente 20bp de DNA fundido, y el complejo completo cubre 30 a 75bp de DNA, dependiendo de la conformación de RNAP.

promotor, en la plantilla de DNA. Esto es seguido por el inicio de la síntesis de RNA en el punto de partida, y el proceso continúa hasta que se alcanza una secuencia de terminación (figura 36-3). **Una unidad de transcripción** se define como la región de DNA que incluye las señales para la iniciación, elongación y terminación de la transcripción. El producto de RNA, que se sintetiza en la dirección 5'-3', es la **transcripción primaria**. La frecuencia de la transcripción varía de un gen a otro, pero puede ser bastante alta. En la **figura 36-4** se presenta una micrografía electrónica de la transcripción en acción. En procariotas, esto puede representar el producto de varios genes contiguos; en células de mamíferos, generalmente representa el producto de un solo gen. El extremo 5' del transcrito de RNA primario y el RNA citoplásmico maduro son idénticos. Por tanto, el **sitio de inicio de la transcripción (TSS, *transcription start site*)** corresponde al nucleótido 5' del mRNA. Este se designa posición +1, como es el nucleótido correspondiente en el DNA. Los números aumentan positivamente a medida que la secuencia avanza a favor del sitio de inicio. Esta convención facilita la localización de regiones particulares, como los límites del intrón y el exón. El nucleótido en el promotor adyacente al sitio de iniciación de la transcripción en la dirección ascendente se designa –1, y estos nú-

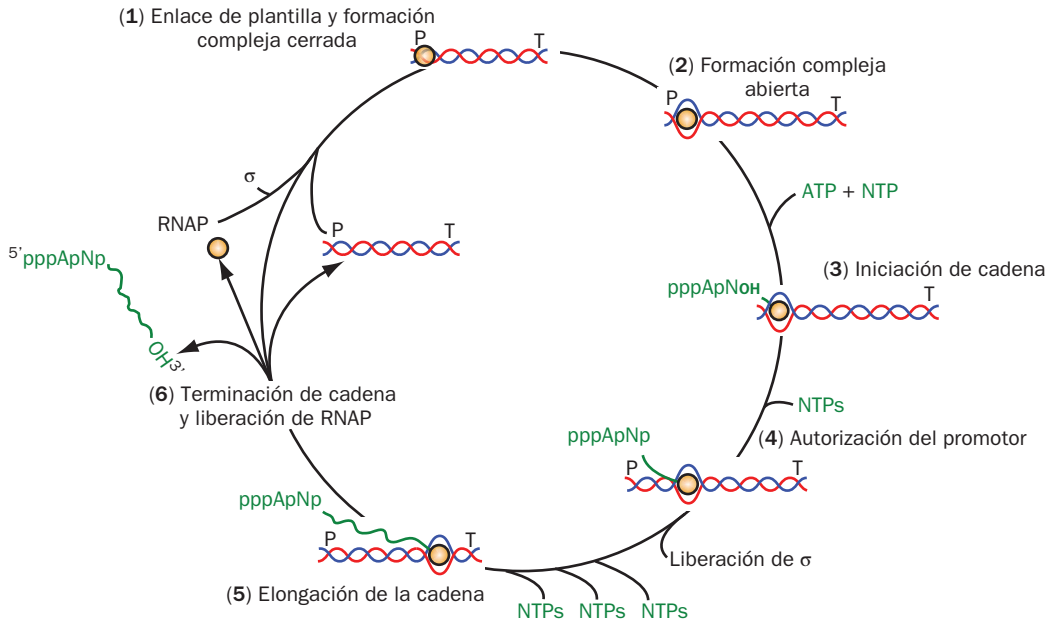


FIGURA 36-3 **El ciclo de transcripción.** El ciclo de transcripción puede describirse en seis pasos: **1) Enlace de plantilla y formación del complejo de promotor de RNA polimerasa cerrado:** el RNAP se une al DNA y luego localiza un elemento de secuencia de DNA del promotor (**P**), **2) Formación del complejo de promotor abierto:** para el promotor, el RNAP funde las dos hebras de DNA para formar un complejo promotor abierto; este complejo también se conoce como el complejo de preiniciación o PIC. La separación de hebras permite que la polimerasa acceda a la información de codificación en la hebra plantilla del DNA. **3) Iniciación de cadena:** Usando la información de codificación de la plantilla, el RNAP cataliza el acoplamiento de la primera base (a menudo una purina) con la segunda plantilla dirigida ribonucleósido trifosfato para formar un dinucleótido (en este ejemplo formando el dinucleótido 5'pppApN_{OH}3'). **4) Liberación del promotor:** después de que la longitud de la cadena del RNA alcanza ~10 a 20nt, la polimerasa experimenta un cambio conformacional y luego puede alejarse del promotor, transcribiendo la unidad de transcripción. En muchos genes, el factor σ se libera de RNAP en esta fase del ciclo de transcripción. **5) Elongación de la cadena:** se añaden residuos sucesivos al extremo 3'-OH de la molécula de RNA naciente hasta que se encuentra un elemento de secuencia de DNA de terminación de la transcripción (T). **6) Terminación de la cadena y liberación de RNAP:** al encontrar el sitio de terminación de la transcripción, el RNAP experimenta un cambio conformacional adicional que conduce a la liberación de la cadena de RNA completa, la plantilla de DNA y RNAP. El RNAP puede volver a unirse al DNA comenzando el proceso de búsqueda del promotor y el ciclo se repite. Tenga en cuenta que todos los pasos en el ciclo de transcripción son facilitados por proteínas adicionales, y de hecho a menudo están sujetos a regulación por factores de acción positiva y/o negativa.

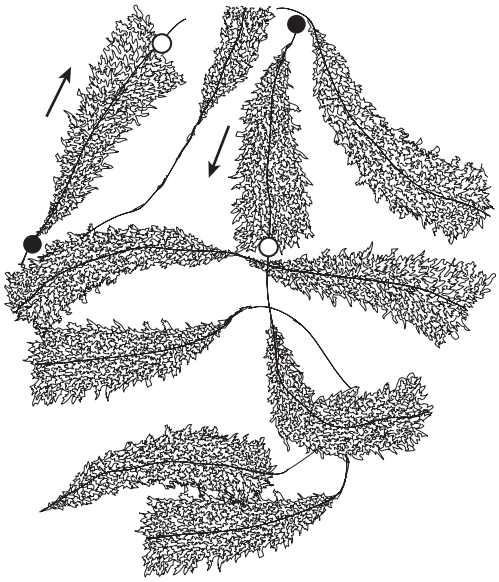


FIGURA 36-4 Representación esquemática de una fotomicrografía de electrones de copias múltiples de genes que codifican rRNA de anfibios en proceso de transcripción. El aumento es de aproximadamente 6 000×. Obsérvese que la longitud de los transcritos aumenta a medida que las moléculas de RNA polimerasa progresan a lo largo de los genes de rRNA individuales desde los sitios de inicio de la transcripción (círculos rellenos) hasta los sitios de terminación de la transcripción (círculos abiertos). La RNA polimerasa I (no se visualiza aquí) se encuentra en la base de las transcripciones de rRNA nacientes. Por tanto, el extremo proximal del gen transcrito tiene transcripciones cortas unidas a él, mientras que las transcripciones mucho más largas se unen al extremo distal del gen. Las flechas indican la dirección (5' → 3') de la transcripción.

meros negativos aumentan a medida que la secuencia avanza, lejos del TSS. Este sistema de numeración +/– proporciona una forma convencional de definir la ubicación de elementos reguladores en un gen (**figura 36-5**).

Las transcripciones primarias generadas por la RNA polimerasa II —una de las tres distintas RNA polimerasas dependientes del DNA nuclear en eucariotas— se modifican rápidamente mediante la adición de cápsulas de trifosfato de 7-metilguanosina (véase la figura 34-10), que persisten y finalmente aparecen en la 5' final del mRNA citoplásmico maduro. Estas tapas son necesarias para el procesamiento posterior del transcrito primario a mRNA, para la traducción del mRNA, y para la protección del mRNA contra el ataque nucleolítico por 5'-exonucleasas.

La RNA polimerasa dependiente de DNA bacteriano es una enzima multisubunidad

La RNA polimerasa dependiente del DNA básico de la bacteria *Escherichia coli* existe como un complejo central de aproximadamente 400 kDa que consta de dos subunidades α idénticas, dos grandes subunidades β y β' y una subunidad ω. La subunidad β se une a los iones Mg^{2+} y compone la subunidad catalítica (figura 36-2). **La RNA polimerasa central, $\beta\beta'\alpha_2\omega$**, a menudo denominada **E**, se asocia con un factor de proteína específico (el **factor sigma** [σ]) para formar **holoenzima, $\beta\beta'\alpha_2\sigma$** o **Eσ**. Los genes que codifican todas estas proteínas son esenciales para la viabilidad, con la excepción del gen que codifica w. La subunidad σ permite que la enzima central reconozca y se una a la región promotora (figura 36-5) para formar el **complejo de preiniciación (PIC, *preinitiation complex*)**. Hay múltiples, distintos genes codificadores de σ-factor en todas las especies bacterianas. Los factores sigma tienen un doble papel en el proceso de reconocimiento de los promotores; la asociación σ con la RNA polimerasa central disminuye su afinidad por el DNA no inductor, al tiempo que aumenta la afinidad de la holoenzima

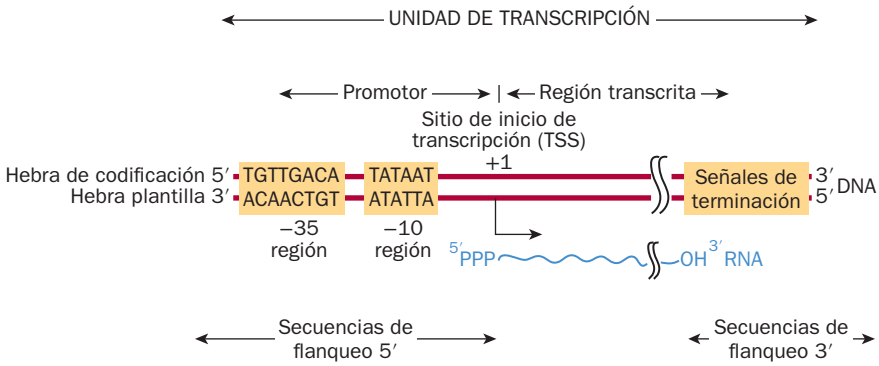


FIGURA 36-5 Los promotores procariotas comparten dos regiones de secuencia de nucleótidos altamente conservada. Estas regiones se encuentran a 35 y 10 bp contrario al TSS, que se indica como +1. Por convención, todos los nucleótidos contrarios al sitio de inicio de la transcripción (en +1) se numeran en un sentido negativo y se denominan secuencias flanqueantes 5', mientras que las secuencias a favor del TSS +1 se numeran en un sentido positivo. También por convención, los elementos de la secuencia reguladora del DNA del promotor tales como los elementos TATA -35 y -10 se describen en la dirección 5'→ 3' y como un ente en la hebra codificante. Estos elementos funcionan sólo en el DNA de doble hebra. Sin embargo, otros elementos reguladores de la transcripción a menudo pueden actuar de una manera independiente de la dirección, y dichos elementos *cis* se dibujan en consecuencia en cualquier esquema (figura 36-8). Tenga en cuenta que la transcripción producida a partir de esta unidad de transcripción tiene la misma polaridad o "sentido" (es decir, orientación 5' → 3') como la hebra de codificación. Los elementos *cis* de terminación residen al final de la unidad de transcripción (consulte la figura 36-6 para obtener más detalles). Por convención, las secuencias a favor del sitio en el que se produce la terminación de la transcripción se denominan secuencias flanqueantes 3'.

CUADRO 36-2 Nomenclatura y propiedades de las polimerasas de RNA dependientes de DNA nuclear de mamíferos

Forma de RNA polimerasa	Sensibilidad a la α-amanitina	Productos principales
I	Insensible	rRNA
II	Sensibilidad alta	mRNA, lncRNA, miRNA, snRNA
III	Sensibilidad moderada	tRNA, 5s rRNA, algunas snRNA

por el DNA del promotor. Los múltiples factores σ compiten por la interacción con la RNA polimerasa central limitante (es decir, **E**). Cada uno de estos factores σ únicos actúa como una proteína reguladora que modifica la especificidad de reconocimiento del promotor de la holoenzima de la RNA polimerasa única resultante (es decir, Eσ1, Eσ2,...). La aparición de diferentes factores σ y su asociación con la RNA polimerasa central para formar nuevas formas de holoenzimas Eσ1, Eσ2, ..., pueden correlacionarse temporalmente con diversos programas de expresión génica en sistemas procariotas tales como la esporulación, el crecimiento en diversas fuentes pobres de nutrientes y la respuesta al choque térmico.

Las células de mamíferos poseen tres distintas polimerasas de RNA dependientes del DNA nuclear

Algunas de las propiedades distintivas de las RNA polimerasas nucleares de mamíferos se describen en el **cuadro 36-2**. Cada una de estas RNA polimerasas dependientes de DNA es responsable de la transcripción de diferentes conjuntos de genes. Los tamaños de las RNA polimerasas oscilan entre MW 500 y 600 kDa. Estas enzimas exhiben perfiles de subunidades más complejas que las RNA polimerasas procariotas. Todos ellos tienen dos subunidades grandes, que tienen una fuerte secuencia y similitudes estructurales con las subunidades procariotas β y β′ y varias subunidades más pequeñas, hasta 14 en el caso del RNA pol III. Las funciones de cada una de las subunidades aún no se comprenden por completo. Una toxina peptídica del hongo *Amanita phalloides*, α-amanitina, es un inhibidor diferencial específico de las RNA polimerasas dependientes del DNA nuclear eucariotas y, como tal, ha demostrado ser una poderosa herramienta de investigación (cuadro 36-2). La α-amanitina bloquea la translocación de la RNA polimerasa durante la formación del enlace fosfodiéster.

LA SÍNTESIS DE RNA ES UN PROCESO CÍCLICO QUE IMPLICA INICIACIÓN, ELONGACIÓN Y TERMINACIÓN DE LA CADENA DE RNA

El proceso de síntesis de RNA en bacterias –representado en la figura 36-3– es cíclico e implica múltiples pasos. La primera holoenzima de la RNA polimerasa (Eσ, *holoenzyme*) debe localizar y luego unirse específicamente a un promotor (**P**, figura 36-3). Una vez que se localiza el promotor, el complejo Eσ-promotor de DNA experimenta un cambio conformacional dependiente de la temperatura y desenrolla, o funde el DNA en y alrededor del sitio de inicio de la transcripción (en +1). Este complejo se denomina PIC. El desenrollamiento permite que el sitio activo del Eσ acceda a la hebra plantilla, que por supuesto dicta la secuencia de ribonucleótidos a polimerizar en RNA. El primer nucleótido (típicamente, aunque no siempre una purina) se asocia luego con el sitio de unión a nucleótidos de la enzima, y en presencia del siguiente nucleótido apropiado unido a la polimerasa, el RNAP cataliza la formación del primer enlace fosfodiéster, y la cadena naciente ahora está unida al sitio de polimerización en la subunidad β de RNAP. Esta reacción se denomina **iniciación**. Debe observarse la analogía con los sitios A y P en el ribosoma; véase la figura 37-9. El dinucleótido naciente retiene el 5'-trifosfato del nucleótido iniciador (figura 36-3, ATP).

La RNA polimerasa continúa incorporando nucleótidos +3 a ~+10, en cuyo punto la polimerasa experimenta otro cambio conformacional y se aleja del promotor; esta reacción se denomina **liberación del promotor**. En muchos genes, el factor σ se disocia del ensamblaje $\beta\beta'\alpha_2$ en este punto. Entonces comienza **la fase de elongación**, y aquí la molécula de RNA naciente crece 5'-3' con pasos consecutivos de incorporación de NTP continuamente cíclicos, antiparalelos a la plantilla. La enzima polimeriza los ribonucleótidos en la secuencia específica dictada por la hebra plantilla e interpretada por las reglas de apareamiento de bases de Watson-Crick. El **pirofosfato (PP$_i$, *pyrophosphate*)** se libera después de cada ciclo de polimerización. En cuanto a la síntesis de DNA, este PP$_i$ se degrada rápidamente a dos moléculas de **fosfato inorgánico** (**P$_i$**, *inorganic phosphate*) por las **pirofosfatasas** ubicuas, lo que proporciona irreversibilidad en la reacción sintética global. La decisión de permanecer en el promotor en un estado fijo o estancado, o la transición a la elongación puede ser un paso regulador importante en la transcripción del gen de mRNA tanto procariota como eucariota.

A medida que el complejo de **elongación** que contiene la RNA polimerasa avanza a lo largo de la molécula de DNA, debe producirse un **desenrollamiento del DNA** para proporcionar acceso para el apareamiento apropiado de bases a los nucleótidos de la hebra codificante. La extensión de esta burbuja de transcripción (es decir, la anulación del DNA) es constante a lo largo de la transcripción y se ha estimado que es de aproximadamente 20 bp por molécula de polimerasa (figura 36-2). Por tanto, el tamaño de la región de DNA desenrollada está dictado por la polimerasa y es independiente de la secuencia de DNA en el complejo. La RNA polimerasa tiene una actividad intrínseca "no ligada" que abre la hélice del DNA (es decir, véase la formación de PIC arriba). El hecho de que la doble hélice de DNA debe desenrollarse, y los filamentos se separan al menos transitoriamente para la transcripción implica una interrupción temporal del núcleo de alguna estructura de células eucariotas. La topoisomerasa precede y sigue a la RNA polimerasa progresiva para prevenir la formación de tensión superhelical que serviría para aumentar la energía requerida para desenrollar el DNA molde antes del RNAP.

La **conclusión** de la síntesis de RNA en bacterias se señala mediante secuencias en el molde de DNA (figura 36-3; **T**) y secuencias dentro del transcrito. En muchos genes RNAP solos termina eficazmente la transcripción. Sin embargo, en un subconjunto de genes, se requiere un **factor rho (ρ)** de **terminación de la proteína** nombrada para mediar en la terminación de la transcripción. Después de la terminación, tanto el núcleo libre de RNAP (E) como el RNA del producto se disocian del molde de DNA. El núcleo libre resultante RNAP (E) es capaz de asociarse con un s-factor para reformar a Es, y reingresar al ciclo de transcripción. En células euca-

riotas, la terminación es menos conocida; sin embargo, las proteínas que catalizan el procesamiento del RNA, la terminación y la poliadenilación parecen cargarse en la RNA polimerasa II poco después de la iniciación. Más de una molécula de RNA polimerasa puede transcribir la misma hebra plantilla de un gen de forma simultánea, pero el proceso se realiza en etapas y espaciadas de tal forma que en cualquier momento transcriben una porción diferente de la secuencia de DNA (figuras 36-1 y 36-4).

LA FIDELIDAD Y LA FRECUENCIA DE LA TRANSCRIPCIÓN ESTÁN CONTROLADAS POR PROTEÍNAS OBLIGADAS A CIERTAS SECUENCIAS DE DNA

El análisis de la secuencia de DNA de genes específicos ha permitido el reconocimiento de varias secuencias importantes en la transcripción génica. A partir del gran número de genes bacterianos estudiados, es posible construir modelos de consenso de iniciación de la transcripción y señales de terminación.

La pregunta: "¿Cómo el RNAP encuentra el sitio correcto para iniciar la transcripción?" No es trivial cuando se considera la complejidad del genoma. La *E. coli* tiene aproximadamente 4×10^3 sitios de iniciación de la transcripción (es decir, promotores de genes) dentro del genoma de $4{,}2 \times 10^6$ bp. La situación es aún más compleja en humanos, donde se distribuyen hasta 150 000 sitios diferentes de iniciación de la transcripción en 3×10^9 bp de DNA. La RNAP bacteriana se puede unir, con baja afinidad, a muchas regiones de DNA, pero escanea la secuencia de DNA a una tasa de $\geq 10^3$ bp/s hasta que reconoce ciertas regiones específicas de DNA a las que se une con mayor afinidad. Estas regiones se denominan promotores, y es la asociación específica de base de RNAP con promotores que asegura el inicio preciso de la transcripción. El proceso de utilización de reconocimiento del promotor es el objetivo para la regulación tanto en bacterias como en humanos.

Los promotores bacterianos son relativamente simples

Los promotores bacterianos tienen aproximadamente 40 nucleótidos (40 bp o cuatro vueltas de la doble hélice de DNA) de longitud, una región suficientemente pequeña como para estar cubierta por una molécula de holopolimerasa de RNA de *E. coli*. En un promotor de consenso, hay dos elementos de secuencia cortos conservados. Aproximadamente 35 pb corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción existe una secuencia consenso de ocho pares de nucleótidos (consenso: 5'-TGTTGACA-3') a la que se une el RNAP para formar el denominado **complejo cerrado**. Más próximo al sitio de inicio de la transcripción –alrededor de 10 nucleótidos corriente arriba– es una secuencia rica en A + T de seis nucleótidos (consenso: 5'-TATAAT-3'). Estos elementos de secuencia conservados juntos contienen el promotor, y se muestran esquemáticamente en la figura 36-5. La última secuencia tiene una temperatura de fusión más baja debido a su falta de pares de nucleótidos GC. Por tanto, se cree que la denominada **"caja TATA"** facilita la disociación de las dos hebras de DNA de modo que la RNA polimerasa unida a la región promotora puede tener acceso a la secuencia de nucleótidos de su hebra plantilla inmediata cadena abajo. Una vez que se produce el proceso de separación de hebras, la combinación de RNA polimerasa más promotor se denomina **complejo abierto**. Otras bacterias tienen secuencias consenso ligeramente diferentes en sus promotores, pero todas tienen generalmente dos componentes para el promotor; estos tienden a estar en la misma posición en relación con el TSS, y en todos los casos las secuencias entre los dos elementos promotores no tienen similitudes pero aún proporcionan funciones espaciadoras críticas que facilitan el reconocimiento de las secuencias -35 y -10 por la holoenzima de la RNA polimerasa afín. Dentro de una célula bacteriana, diferentes conjuntos de genes a menudo están regulados de manera coordinada. Una forma importante de lograr esto es a través del hecho de que estos genes corregulados comparten secuencias promotoras -35 y -10 particulares. Estos conjuntos únicos de promotores son reconocidos por diferentes factores σ unidos a la RNA polimerasa central (es decir, Eσ1, Eσ2,...).

El RNAP bacteriano sólo tiene la capacidad intrínseca de terminar específicamente la transcripción en aproximadamente 50% de los genes celulares. En los genes bacterianos restantes, se requiere el factor de terminación accesorio ρ. En la **figura 36-6** se presentan los mecanismos propuestos para eventos de terminación de la transcripción ρ independientes y ρ dependientes. La mayoría de los eventos de transcripción del gen de mRNA eucariótico dependen del factor de transcripción accesorio.

Como se expone en detalle en el capítulo 38, la transcripción génica bacteriana se controla a través de la acción de proteínas represoras y activadoras. Estas proteínas típicamente se unen a secuencias de DNA únicas y específicas que se encuentran adyacentes a los promotores. Estos represores y activadores afectan la capacidad de la RNA polimerasa para unirse al DNA del promotor y/o formar complejos abiertos. El efecto neto es estimular o inhibir la formación de PIC y la iniciación de la transcripción, bloqueando o mejorando en consecuencia la síntesis de RNA específica.

Los promotores eucariotas son más complejos

Hay dos tipos de señales proximales de TSS en el DNA que controlan la transcripción en células eucariotas. Una de estas, **el promotor**, define dónde la transcripción es la transcripción de iniciación en la plantilla de DNA, mientras que la otra, los elementos de DNA que estimulan y reprimen la transcripción, contribuyen a los mecanismos que controlan la frecuencia con que se produce la transcripción. Por ejemplo, en el gen de timidina cinasa (tk, *thymidine kinase*) del virus del herpes simple (HSV, *herpes simplex virus*), que utiliza factores de transcripción de su huésped mamífero para su programa de expresión génica temprana, existe un solo TSS único, y la iniciación de la transcripción que precisa de este sitio depende en una secuencia de nucleótidos ubicada aproximadamente a 25 nucleótidos corriente arriba del sitio de inicio (es decir, a -25) (**figura 36-7**). Esta región tiene la secuencia de **TATAAAAG** y tiene una notable similitud con el **TATA** funcionalmente relacionado que se encuentra a unos 10 bp corriente arriba del mRNA de RNA procariota (figura 36-5). La mutación del cuadro TATA reduce notablemente la transcripción del gen HSV tk y muchos otros genes celulares que contienen este elemento **activo cis** consenso (**figuras** 36-7 y **36-8**). La caja TATA generalmente se ubica de 25 a 30 pb corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción en genes de mamíferos que lo contienen. La secuencia de consenso para una caja TATA es TATAAA, aunque se han caracterizado numerosas variaciones. La caja TATA humana está unida por la **proteína de unión**

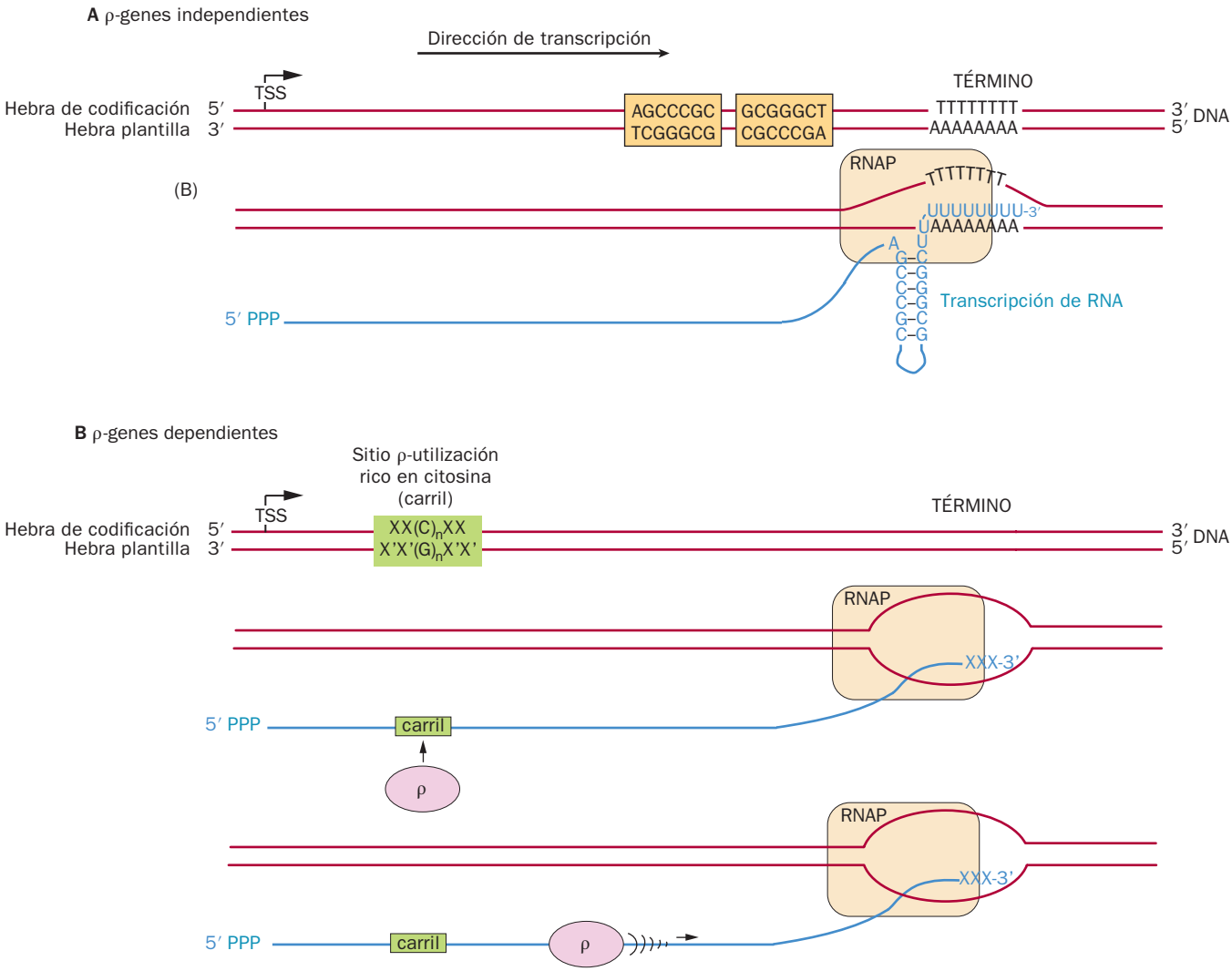


FIGURA 36-6 Dos mecanismos principales de terminación de la transcripción en bacterias. A) El RNAP bacteriano puede terminar directamente la transcripción después del reconocimiento de señales del RNA y DNA específicas dentro de transcripciones/unidades de transcripción. En tales situaciones, la señal de terminación de la transcripción contiene una repetición con guion invertido (las dos áreas encuadradas) seguida de un tramo de A bp en la hebra de la plantilla (aquí, hebra inferior). Las secuencias que contienen repetición invertida, cuando se transcriben en RNA, pueden generar una estructura secundaria como la presente en el transcrito de RNA que se muestra. La formación de esta horquilla de RNA hace que la RNA polimerasa se detenga y, al reconocer la secuencia poli(A) en la hebra plantilla, induce la terminación de la cadena de transcripción. **B)** En los casos en que los genes no contienen los dos elementos *cis* mencionados anteriormente, un nuevo elemento rico en guanina en el DNA, y un factor de transcripción accesorio, la proteína ρ, juntos sirven para facilitar la terminación de la transcripción. La transcripción contiene una serie de residuos C que sirven como un sitio de unión para el factor ρ, que a su vez es una ATPasa hexamérica. Cuando está presente en la transcripción, este elemento, denominado un sitio de utilización de factor ρ, o carril, se reconoce directamente por ρ-factor. Tras la unión del carril, su actividad ATPasa intrínseca se activa y el factor ρ transloca 5' a 3' en el transcrito hasta que ρ se encuentre con la RNA polimerasa de transcripción. La interacción ρ-factor-RNAP induce la terminación de la transcripción y la disociación del DNA, el RNA y la proteína.

a TATA de 34kDa (**TBP,** ***TATA-binding protein***), una subunidad en al menos dos complejos de multisubunidades, TFIID y SAGA/P-CAF. Las subunidades noTBP de TFIID son proteínas llamadas **factores asociados a TB (TAFs,** ***TBP associated factors*****)**. Se cree que la unión del complejo TBP-TAF TFIID a la secuencia de la caja TATA representa un primer paso en la formación del complejo de transcripción en el promotor.

Una gran cantidad de genes eucariotas que codifican mRNA carecen de una caja TATA de consenso. En tales casos, elementos *cis* adicionales de DNA, una **secuencia iniciadora (Inr,** ***initiator sequence*****)** y/o el **elemento promotor corriente abajo (DPE,** ***downstream promoter element*****)**, dirigen la maquinaria de transcripción del RNA polimerasa II al promotor y sirven para dirigir el RNA pol II para iniciar la transcripción a partir del sitio. El elemento Inr abarca el sitio de inicio (de -3 a +5) y consiste en la secuencia consenso general TCA^{+1}g/tT t/c (A^{+1} indica el primer nucleótido transcrito, es decir, TSS). Las proteínas que se unen a Inr para dirigir la unión de pol II incluyen TFIID. Los promotores que tienen tanto

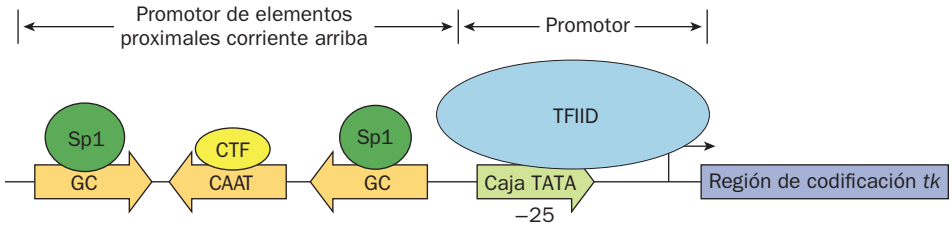


FIGURA 36-7 Elementos de transcripción y factores de unión en el gen de la timidina cinasa (tk) del virus del herpes simple. La RNA polimerasa II dependiente del DNA (no mostrada) se une a la región que abarca la caja TATA (que se muestra aquí limitada por el factor de transcripción TFIID) y TSS a +1 (véase también la figura 36-9) para formar un PIC multicomponente capaz de iniciar transcripción en un solo nucleótido (+1 TSS). La frecuencia de este evento se ve incrementada por la presencia de elementos de acción *cis* corriente arriba (los cuadros GC y CAAT) ubicados cerca del promotor (promotor proximal) o distantes del promotor (elementos distales, véase la figura 36-8). Los elementos *cis* de DNA proximales y distales están unidos por factores de activación transcripcional que actúan en trans, en este ejemplo Sp1 y CTF (también llamados C/EBP, NF1, NFY). Estos elementos *cis* pueden funcionar independientemente de la orientación (flechas).

una caja TATA como un Inr pueden ser "más fuertes" o más transcritos con frecuencia, que aquellos que sólo tienen uno de estos elementos. El DPE tiene la secuencia de consenso a/gGa/tCGTG y se localiza aproximadamente a 25-bp corriente abajo del +1 TSS. Al igual que el Inr, las secuencias DPE también están unidas por las subunidades TAF de TFIID. En una encuesta de cientos de miles de genes codificadores de proteínas eucariotas, aproximadamente 30% contenía una caja TATA e Inr, 25% contenía Inr y DPE, 15% contenía los tres elementos, mientras que ~30% contenía sólo el Inr.

Generalmente las secuencias, aunque no siempre, simplemente corriente arriba del sitio de inicio contribuyen de manera importante a la frecuencia con la que se produce la transcripción. No es sorprendente que las mutaciones en estas regiones reduzcan la frecuencia de iniciación de la transcripción de 10 a 20 veces. Típico de estos elementos de DNA son los cuadros GC y CAAT, llamados así debido a las secuencias de DNA implicadas. Como se ilustra en la figura 36-7, cada uno de estos elementos de DNA está unido a una proteína específica, Sp1 en el caso de la caja de GC y CTF en la caja de CAAT; ambos se unen a través de sus **dominios de unión al DNA distintivos (DBD, *DNA-binding domains*)**. La frecuencia de iniciación de la transcripción es consecuencia de estas interacciones proteína-DNA e interacciones complejas entre dominios par-

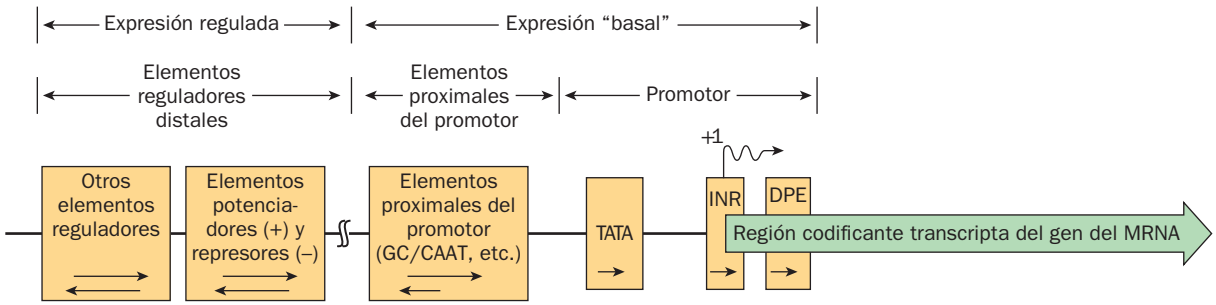


FIGURA 36-8 Esquema que muestra las regiones de control de la transcripción en un gen eucariótico hipotético productor de mRNA transcrito por la RNA polimerasa II. Tal gen se puede dividir en sus regiones codificadoras y reguladoras, tal como se define en el sitio de inicio de la transcripción (flecha; +1). La región codificante contiene la secuencia de DNA que se transcribe en mRNA, que finalmente se traduce en proteína, típicamente después del procesamiento extenso del mRNA mediante corte y empalme (figuras 36-12 a 36-16). La región reguladora consiste en dos clases de elementos. Uno es responsable de garantizar la expresión basal. El "promotor", a menudo compuesto por la caja TATA y/o los elementos de Inr y/o DPE (véase el cuadro 36-3), dirige la maquinaria de transcripción de RNA polimerasa II al sitio correcto (fidelidad). Sin embargo, en ciertos genes que carecen de un consenso TATA, los llamados promotores sin TATA, un iniciador (Inr) y/o elementos de DPE pueden dirigir la polimerasa a este sitio. Otro componente, los elementos ascendentes, especifica la frecuencia de iniciación; tales elementos pueden ser proximales (50-200 bp) o distales (1 000-10^5 bp) para el promotor como se muestra. Entre los elementos proximales mejor estudiados se encuentra la caja CAAT, pero otros elementos (unidos por las proteínas transactivadoras Sp1, NF1, AP1, etc, cuadro 36-3) pueden usarse en diversos genes. Los elementos distales mejoran o reprimen la expresión, algunos de los cuales median la respuesta a varias señales, incluyendo hormonas, choque térmico, metales pesados y productos químicos. La expresión específica de tejido también implica secuencias específicas de este tipo. La dependencia de la orientación de todos los elementos está indicada por las flechas dentro de los cuadros. Por ejemplo, los elementos promotores proximales (caja TATA, INR, DPE) deben estar en la orientación 5' → 3', mientras que los elementos corriente arriba proximales a menudo funcionan mejor en la orientación 5' → 3', la mayoría se puede revertir. Las ubicaciones de algunos elementos no son fijas con respecto al sitio de inicio de la transcripción. De hecho, algunos elementos responsables de la expresión regulada se pueden ubicar intercalados con los elementos ascendentes o se pueden ubicar corriente abajo del sitio de inicio, dentro o incluso corriente abajo del propio gen regulado.

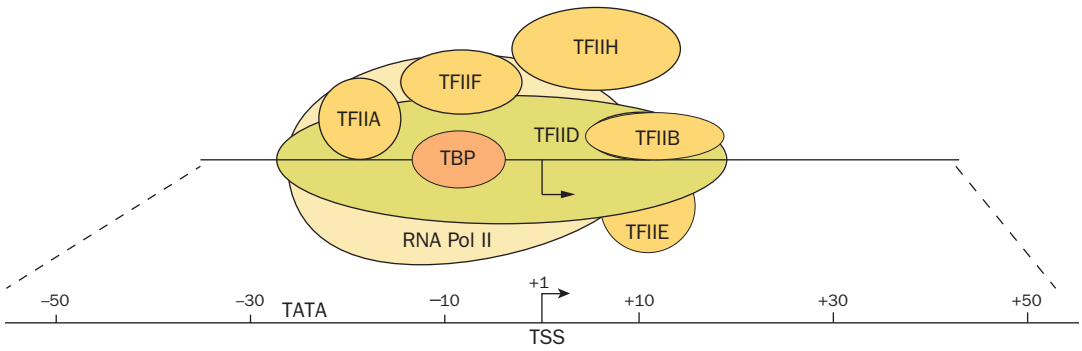


FIGURA 36-9 El complejo de transcripción basal eucariota. La formación del complejo de transcripción basal comienza cuando TFIID se une, a través de su subunidad de proteína de unión TATA (TBP) y varias de sus 14 subunidades de factor asociado a TBP (TAF), a la caja TATA. La TFIID luego dirige el ensamblaje de otros componentes por las interacciones proteína-DNA y proteína-proteína: TFIIA, B, E, F, H y polimerasa II (pol II). El complejo completo abarca el DNA desde aproximadamente las posiciones -30 a +30 en relación con el TSS en +1 (marcado por una flecha doblada). El nivel atómico, las estructuras derivadas de rayos X de la RNA polimerasa II sola y de la subunidad TBP de TFIID unida al DNA del promotor TATA en presencia de TFIIB o TFIIA se han resuelto con una resolución de 3-Å. Las estructuras de los PIC de mamíferos y levaduras también se han determinado recientemente a una resolución de 10-Å mediante microscopía electrónica. Por tanto, las estructuras moleculares de la maquinaria de transcripción en acción están comenzando a dilucidarse. Gran parte de esta información estructural es consistente con los modelos presentados aquí.

ticulares de los factores de transcripción (distintos de los dominios DBD llamados **dominios de activación; [ADs, *activation domains*]**) y el resto de la maquinaria de transcripción (RNA polimerasa II, los **factores basales o generales**, factores generales de transcripción (**GTFs,** *general transcription factors*)**, TFIIA, B, D, E, F**, dan otros factores correguladores como mediadores, remodeladores de cromatina y factores modificadores de la cromatina) (véanse las **figuras 36-9** y **36-10**). Las interacciones proteína-DNA en la caja TATA que implican la RNA polimerasa II y otros componentes de la maquinaria de transcripción basal aseguran la fidelidad de la iniciación.

Juntos, el promotor más los elementos ascendentes del promotor proximal *cis*-activo confieren fidelidad y modulan la frecuencia de iniciación en un gen, respectivamente. La caja TATA tiene un requisito particularmente invariable tanto para la posición como para la orientación. Como con los promotores bacterianos, los cambios de una sola base en cualquiera de estos elementos *cis* pueden tener efectos dramáticos en la función al reducir la afinidad de unión de los factores *trans* relacionados (ya sea TFIID/TBP o Sp1, CTF y factores similares). El espaciado de la caja TATA, Inr y DPE también es preciso.

Una tercera clase de elementos de secuencia también aumentan o disminuyen la tasa de transcripción de genes eucariotas. Estos elementos se denominan **potenciadores o represores** (**o silenciadores**), según cómo afecten a la transcripción. Se han encontrado en una variedad de ubicaciones, tanto corriente arriba como corriente abajo del sitio de inicio de la transcripción, e incluso dentro de las porciones de codificación de la proteína transcrita de algunos genes. Los potenciadores y silenciadores pueden ejercer sus efectos cuando se encuentran a miles o incluso a muchas decenas de miles de bases de unidades de transcripción ubicadas en el mismo cromosoma. Sorprendentemente, los potenciadores y silenciadores pueden funcionar de forma independiente de la orientación. Literalmente, se han descrito cientos de estos elementos. En algunos casos, los requisitos de secuencia para el enlace están rígidamente restringidos; en otros, se permite una variación de secuencia considerable. Algunas secuencias se unen sólo a una sola proteína; sin embargo, la mayoría de estas secuencias reguladoras están unidas por varias proteínas diferentes. En conjunto, estos muchos transfactores que se unen al promotor distal y los elementos *cis* proximales regulan la transcripción en respuesta a una amplia gama de señales biológicas. Tales eventos reguladores transcripcionales contribuyen de manera importante al control de la expresión génica.

Señales específicas regulan la terminación de la transcripción

Las señales para la terminación de la transcripción por la RNA polimerasa II eucariota son escasamente conocidas. Parece que las señales de terminación existen muy corriente abajo de la secuencia de codificación de proteínas de genes eucariotas. Por ejemplo, la señal de terminación de la transcripción para β-globina de ratón se produce en varias posiciones de 1 000 a 2 000 bases más allá del sitio en el que eventualmente se añadirá la cola de poli (A) del mRNA. Se sabe menos sobre el proceso de terminación o si podrían estar involucrados factores de terminación específicos similares al factor ρ bacteriano. Sin embargo, se sabe que la formación del extremo 3' del mRNA, que se genera después de la transcripción, de alguna manera está acoplada a eventos o estructuras formados en el momento y el sitio de iniciación. Además, la formación de mRNA, y en este caso la formación del extremo 3' del mRNA depende de una estructura especial presente en el extremo C de la subunidad más grande de la RNA polimerasa II, el **dominio carboxi terminal** o **CTD (*carboxy-terminal domain*)**, y este proceso parece implicar al menos dos pasos de la siguiente manera. Después de que la RNA polimerasa II haya atravesado la región de la unidad de transcripción que codifica el extremo 3' del transcrito, las endonucleasas del RNA escinden el transcrito primario en una posición de aproximadamente 15 bases 3' de la secuencia consenso **AAUAAA** que sirve en transcritos eucariotas como **señal de poliadenilación y escisión**. Finalmente, este terminal 3' recién formado es poliadenilado en el nucleoplasma, como se describe a continuación.

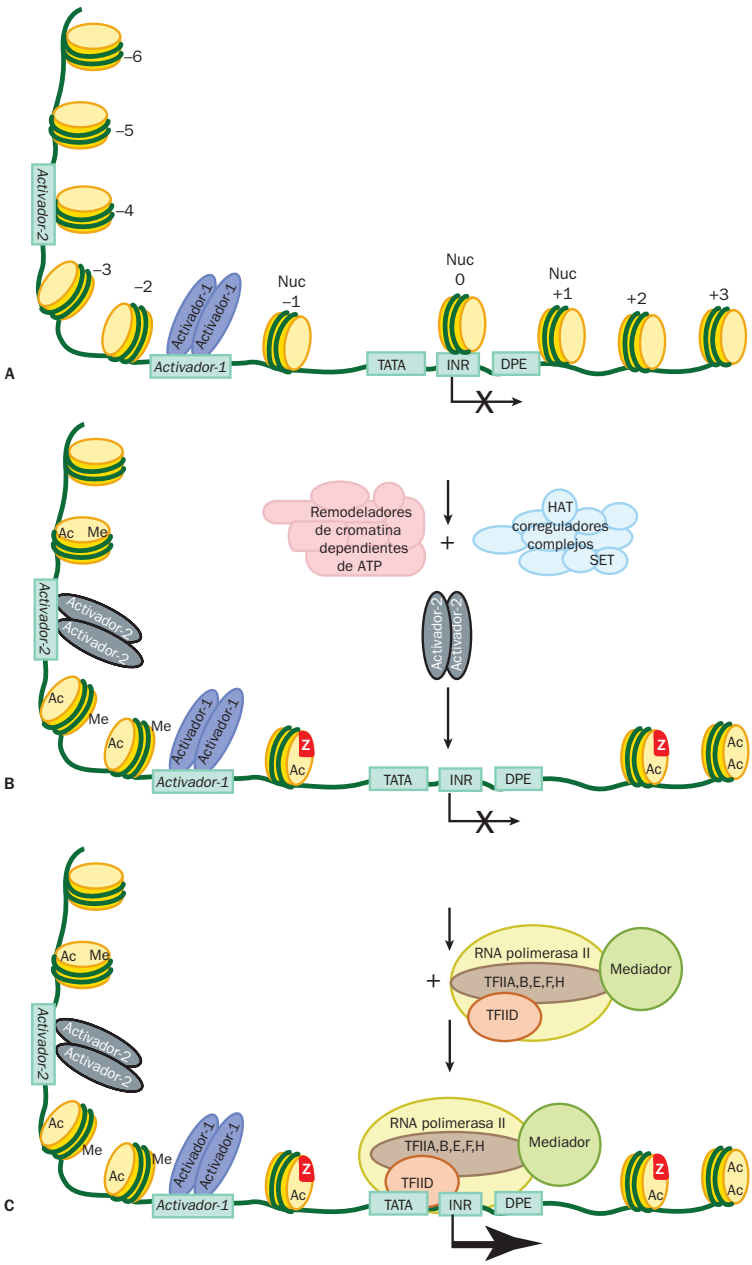


FIGURA 36-10 Las modificaciones covalentes de los nucleosomas, la remodelación y el desalojo por correguladores activos de cromatina modulan la formación y la transcripción de PIC. En **A)**, se muestra un gen que codifica mRNA inactivo (véase X over TSS) con un solo factor de transcripción dimérico (Activador-1; óvalos violetas) unido a su sitio de unión potenciador afín (Activador-1). Este elemento potenciador particular estaba libre de nucleosomas y, por tanto, estaba disponible para la interacción con su proteína de unión activadora afín. Sin embargo, este gen aún está inactivo (X sobre TSS) debido al hecho de que una porción de su potenciador (en esta ilustración, el potenciador es bipartito y está compuesto de *Activador-1* y *Activador-2*, sitios de unión al DNA) y el promotor están cubiertos por nucleosomas. Recuerde que los nucleosomas tienen ~150 pb de DNA enrollado alrededor del octámero de histona. Por tanto, el único nucleosoma sobre el promotor ocluirá el acceso de la maquinaria de transcripción (pol II + GTF) a los elementos del promotor TATA, Inr y/o DPE. **B)** El potenciador unido al DNA Activador-1 interacciona con cualquiera de una serie de remodeladores de cromatina dependientes de ATP distintos y complejos correguladores modificadores de la cromatina. Estos correguladores juntos tienen la capacidad de moverse, remodelarse (es decir, cambiar el contenido de histona octamérica y/o eliminar nucleosomas) a través de la acción de diversos remodeladores dependientes de ATP así como modificar covalentemente las histonas nucleosómicas usando acetilasas intrínsecas (HAT; resultando en acetilación [Ac]) y metilasas (SET, lo que resulta en la metilación [Me], entre otros PTMs; cuadro 35-1) llevado por las subunidades de estos complejos. **C)** Los cambios resultantes en la posición del nucleosoma y la ocupación de nucleosomas (es decir, nucleosomas -4, 0 y +1), la composición (nucleosoma -1 y nucleosoma +2, el reemplazo de H2A nucleosomal con histona H2AX [Z]) permite así la unión del segundo dímero Activador-2 a secuencias Activador-2 de DNA, que finalmente conduce a la unión de la maquinaria de transcripción (TFIIA, B, D, E, F, H, polimerasa II y mediador) al promotor (TATA-INR- DPE) y la formación de un PIC activo, que conduce a la transcripción activada (flecha grande en TSS).

LA TRANSCRIPCIÓN DEL COMPLEJO EUCARIOTA

Un aparato complejo que consta de hasta 50 proteínas únicas proporciona una transcripción precisa y regulable de genes eucariotas. Las enzimas de RNA polimerasa (pol I, pol II y pol III) transcriben la información contenida en la plantilla de la cadena de DNA en RNA. Estas polimerasas deben reconocer un sitio específico en el promotor para iniciar la transcripción en el nucleótido apropiado. Sin embargo, a diferencia de la situación en procariotas, las RNA polimerasas eucariotas solas no son capaces de discriminar entre las secuencias promotoras y otras regiones de DNA no promotoras en el tubo de ensayo. Todas las RNA polimerasas eucariotas requieren de otras proteínas conocidas como factores de transcripción generales o GTF para catalizar la transcripción específica. La RNA polimerasa II requiere TFIIA, B, D (o TBP), E, F y H para facilitar la unión específica del promotor de la enzima y la formación del PIC. Las RNA polimerasas I y III requieren sus propios GTF específicos de la polimerasa. Dentro de la célula, la maquinaria de transcripción (RNA polimerasa II y GTF) y el activador, las proteínas interactúan con otro conjunto de proteínas, los **coactivadores** (también conocidos como **correguladores**). Los correguladores se conectan entre las proteínas activadoras unidas al DNA potenciador y la maquinaria de transcripción, y al hacerlo regulan la velocidad de transcripción.

Formación del complejo de transcripción pol II

En las bacterias, un complejo holoenzimático del factor-σ-polimerasa, Eσ, se une selectiva y directamente al DNA del promotor para formar el PIC. La situación es mucho más compleja en los genes eucariotas. Los genes que codifican al mRNA, que son transcritos por pol II, se describen como un ejemplo. En el caso de los genes pol-transcritos, la función de los factores σ es asumida por un número de proteínas. La formación de PIC requiere pol II y los seis GTF (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF, TFIIH). Estos GTF sirven para promover la transcripción de la RNA polimerasa II en prácticamente todos los genes. Algunos de estos GTF se componen de múltiples subunidades. El complejo TFIID de 15 subunidades (TFIID consta de 15 subunidades, TBP y 13-14 TBP TAF), que se une al elemento promotor de cuadro TATA a través de sus subunidades TBP y TAF. La TFIID es el único GTF que es independientemente capaz de unirse de manera específica y de alta afinidad al DNA del promotor.

La TBP se une a la caja TATA en el surco menor del DNA (la mayoría de los factores de transcripción se unen en el surco mayor) y causa una curvatura o torsión de la hélice del DNA de aproximadamente 100°. Se cree que esta flexión facilita la interacción de los TAF con otros componentes del complejo de iniciación de la transcripción, el promotor eucariótico multicomponente y posiblemente con factores unidos a elementos corriente arriba. Aunque inicialmente se definió como un componente requerido únicamente para la transcripción de promotores del gen pol II, el TBP, en virtud de su asociación con conjuntos de TAF específicos de polimerasa, también es un componente importante de los complejos de iniciación de la transcripción pol I y pol III, incluso si no contiene cajas TATA.

La unión de TFIID marca un promotor específico para la transcripción. De varios pasos posteriores *in vitro*, el primero es la unión de TFIIA, luego TFIIB al promotor complejo TFIID. Esto da como resultado un complejo de DNA multiproteína estable, que se localiza de manera más precisa y se une más fuertemente al sitio de inicio de la transcripción. Este complejo atrae y ata el complejo pol II y TFIIF al promotor. La adición de TFIIE y TFIIH son los pasos finales en el montaje del PIC. Cada uno de estos eventos vinculantes amplía el tamaño del complejo de modo que finalmente se cubren aproximadamente 60 pb (de -30 a +30 en relación con el +1 TSS) (figura 36-9). El PIC ahora está completo y es capaz de iniciar la transcripción basal a partir del nucleótido correcto. En los genes que carecen de una caja TATA, se requieren los mismos factores. En tales casos, el Inr y/o DPE sirven para posicionar el complejo para el inicio preciso de la transcripción (véase figura 36-8).

La accesibilidad de los promotores y, por tanto, la formación de PIC a menudo están moduladas por los nucleosomas

En ciertos genes eucariotas, la maquinaria de transcripción (pol II, etc.) no puede acceder a secuencias promotoras (es decir, TATA-INR-DPE) porque estos elementos promotores esenciales están envueltos en nucleosomas (véanse las figuras 35-2, 35-3 y 36-10). Sólo después de que los factores de transcripción se unan al potenciador del promotor de DNA corriente arriba y recluten la remodelación de la cromatina y modifiquen factores correguladores, tales como Swi/Snf, SRC-1, p300/CBP (véase capítulo 42), P/CAF u otros factores, son reprimiendo los nucleosomas eliminados (figura 36-10). Una vez que el promotor está "abierto" después del desalojo del nucleosoma, los GTF y la RNA polimerasa II pueden unirse e iniciar la transcripción del gen del mRNA. Obsérvese que la unión de transactivadores y correguladores puede ser sensible y/o controlar directamente la composición y/o el estado de modificación covalente del DNA y las histonas dentro de los nucleosomas en y alrededor del promotor y potenciador, y así aumentar o disminuir la capacidad de todos los otros componentes requeridos para la formación de PIC para interactuar con un gen particular. Este llamado **código epigenético de modificaciones de DNA, histonas y proteínas** puede contribuir de manera importante al control de la transcripción génica. De hecho, las mutaciones en las proteínas que catalizan (codificadores), eliminan (borrado de códigos) o se unen diferencialmente (lectores de códigos) al DNA modificado y/o las histonas pueden conducir a enfermedades humanas.

La fosforilación activa pol II

El pol II eucariótico consta de 12 subunidades. Como se señaló anteriormente, las dos subunidades más grandes del pol II (MW 220 y 150 kDa) son homólogas a las subunidades bacterianas β' y β. Además del aumento en el número de subunidades, el pol II eucariota difiere de su homólogo procariota en que tiene una serie de repeticiones hepta con secuencia consenso Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser en el extremo carboxilo de la subunidad pol II más grande, el llamado **dominio CTD o terminal-C**. Este CTD tiene 26 unidades repetidas en levadura y 52 unidades en mamíferos. El CTD es un sustrato para varias enzimas (cinasas, fosfatasas, prolil isomerasas, glucosilasas); la fosforilación de la CTD fue la primera CTD PTM descubierta. Entre otras proteínas, la subunidad de cinasa de TFIIH puede modificar el CTD. El CTD modificado covalentemente es el sitio de unión, o plataforma, para una amplia gama de proteínas, y se ha demostrado que interactúa con muchas enzimas de modificación y procesamiento de mRNA y proteínas de transporte nuclear.

La asociación de estos factores con el CTD de la RNA polimerasa II (y otros componentes de la maquinaria basal) sirve para acoplar la iniciación de la transcripción con el encapsulado del mRNA, el corte y empalme, la formación del extremo 3' y el transporte al citoplasma. La polimerización de pol II se activa cuando se fosforila en los residuos Ser y Thr y muestra una actividad reducida cuando el CTD se defosforila. La fosforilación/desfosforilación de CTD es precisa para la eliminación del promotor, elongación, terminación e incluso el procesamiento de mRNA apropiado. El pol II que carece de la cola de CTD es incapaz de activar la transcripción, *in vitro* y las células que expresan pol II que carecen de la CTD son inviables. Estos resultados subrayan la importancia de este dominio para la biogénesis de mRNA.

El pol II puede asociarse con otras proteínas llamadas **mediadoras o mediaproteínas** para formar un complejo a veces denominado holoenzima pol II; este complejo se puede formar en el promotor o en la solución antes de la formación de PIC. Las proteínas Med (más de 30 proteínas, Med1-Med31) son esenciales para la regulación apropiada de la transcripción de pol II al cumplir innumerables funciones, tanto la activación como la represión de la transcripción. Por tanto, el mediador, como TFIID, es un corregulador transcripcional (**figura 36-11**).

El papel de los activadores y correguladores de la transcripción

La TFIID se consideró originalmente como una sola proteína, TBP. Sin embargo, varias pruebas condujeron al descubrimiento de que TFIID es en realidad un complejo que consta de TBP y los 14 TAF. La primera evidencia de que TFIID era más compleja que las moléculas de TBP vino de la observación de que TBP se une a un segmento de DNA de 10 bp, inmediatamente sobre la caja TATA del gen, mientras que holo-TFIID nativa cubre una región de 35 pb o más (figura 36-9). En segundo lugar, el TBP expresado en *E. coli* recombinante purificado tiene una masa molecular de 20 a 40 kDa (dependiendo de la especie), mientras que el complejo TFIID nativo tiene una masa de aproximadamente 1 000 kDa. Finalmente, y quizá lo más importante, TBP es compatible con la transcripción basal, pero no con la transcripción aumentada proporcionada por ciertos activadores, por ejemplo, Sp1 unido a la caja del GC. La TFIID, por otro lado, admite la transcripción basal y mejorada por Sp1, Oct1, AP1, CTF, ATF, etc. (**cuadro 36-3**). Los TAF son esenciales para esta transcripción mejorada por activador. Es probable que haya varias formas de TFIID en los metazoos que difieren ligeramente en su complemento de TAF. Por tanto, diferentes combinaciones de TAF con TBP o uno de varios factores similares a TBP recientemente descubiertos (TLF) se unen a diferentes promotores, y los informes recientes sugieren que esto puede explicar la activación del gen selectivo de tejido o célula observada en diversos promotores y para las diferentes fortalezas de ciertos promotores. Dado que los TAF, son necesarios para la acción de los activadores, a menudo se denominan coactivadores o correguladores. Por tanto, existen tres clases de factores de transcripción implicados en la regulación de los genes pol II: pol II y GTF, correguladores y proteínas represoras o activadoras de unión al DNA (**cuadro 36-4**). La forma en que estas clases de proteínas interactúan para gobernar tanto el sitio como la frecuencia de la transcripción es una cuestión de importancia central e investigación activa. Actualmente se piensa que los correguladores actúan como puente entre los transactivadores de unión a DNA y los pol II/GTF, y actúan para modificar la cromatina.

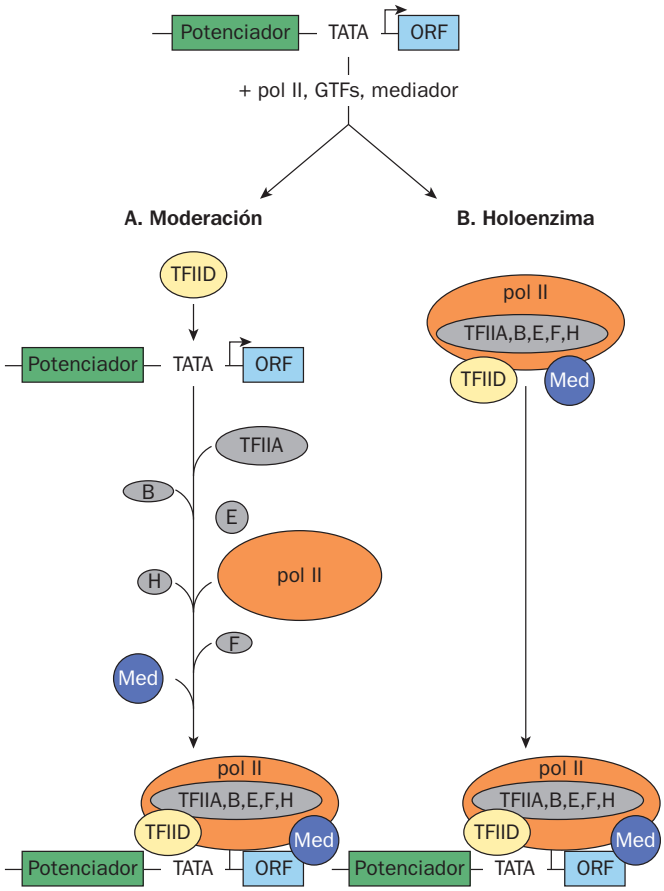


FIGURA 36-11 Modelos para la formación de un complejo de preiniciación de RNA polimerasa II. En la parte superior se muestra una unidad de transcripción de gen de mRNA típica: potenciador-promotor (TATA)-TSS (flecha doblada) y ORF (marco de lectura abierto, secuencias que codifican la proteína) dentro de la región transcrita. Se ha demostrado que los PIC se forman por al menos dos mecanismos distintos *in vitro*: **A)** la unión por etapas de los GTF, pol II y mediador (Med), o **B)** mediante la unión de un único complejo multiproteico compuesto por pol II, Med y los seis GTF. Las proteínas transactivadoras de unión a DNA se unen específicamente a potenciadores y en parte facilitan la formación de PIC (o función PIC) uniéndose directamente a las subunidades TFIID-TAF, o subunidades Med del mediador (no se muestra, véase la figura 36-10) u otros componentes de la maquinaria de transcripción. El mecanismo o mecanismos moleculares por los cuales tales interacciones proteína-proteína estimulan la transcripción continúan siendo un tema de intensa investigación.

Dos modelos que pueden explicar el montaje del complejo de preiniciación

La formación del PIC descrito anteriormente se basa en la adición secuencial de componentes purificados como se observó a través de experimentos *in vitro*. Una característica esencial de este modelo es que el ensamblaje de PIC tiene lugar en una plantilla de DNA donde las proteínas de transcripción tienen acceso fácil al DNA. Por consiguiente, se cree que los activadores de la transcripción, que tienen dominios de activación y unión de DNA autónomos

CUADRO 36-3 Algunos de los elementos de control de transcripción de RNA polimerasa de mamífero, sus secuencias de consenso y los factores que los unen

Elemento	Secuencia de consenso	Factor
TATA box	TATAAA	TBP/TFIID
Inr	T/CT/CANT/AT/CT/C	TFIID
DPE	A/GGA/TCGTG	TFIID
Caja CAAT	CCAATC	C/EBP*, NF-Y*
Caja de GC	GGGCGG	Sp1*
Caja-E	CAACTGAC	Myo D
κB motivo	GGGACTTTCC	NF-κB
Ig octamer	ATGCAAAT	Oct1, 2, 4, 6*
AP1	TGAG/CTC/AA	Jun, Fos, ATF*
Respuesta sérica	GATGCCCATA	SRF
Choque térmico	$(NGAAN)_3$	HSF

Nota: Todos los elementos enumerados se escriben de 5′ a 3′ y sólo se muestra el filamento superior del elemento dúplex. Una lista completa incluiría cientos de ejemplos. Los asteriscos significan que hay varios miembros de esta familia. Los nucleótidos separados por una/indican que cualquiera de los dos nucleótidos puede estar en esa posición (es decir, T/C en la primera posición implica que T o C pueden ocupar esa posición; N implica cualquiera de las cuatro bases de DNA A, G, C, o T puede ocupar esa posición particular en el elemento *cis* indicado.

(DBD y AD, véase el capítulo 38), funcionan estimulando la formación de PIC. Aquí, los complejos TAF o mediadores se consideran factores de enlace que se comunican entre los activadores de enlace ascendente, y los GTF y pol II. Esta visión asume que hay un **ensamblaje por etapas** del PIC-promovido por diversas interacciones entre activadores, coactivadores y componentes PIC, y se ilustra en el panel A de la figura 36-11. Este modelo está respaldado por observaciones de que muchas de estas proteínas se pueden unir entre sí *in vitro*.

La evidencia reciente sugiere que hay otro posible mecanismo de formación de PIC y por tanto la regulación de la transcripción. Primero, se encuentran grandes complejos preensamblados de GTF y pol II en extractos celulares, y estos complejos pueden asociarse con el promotor en un solo paso. En segundo lugar, la tasa de transcripción lograda cuando se agregan activadores a concentraciones limitantes de holoenzima pol II se puede combinar incrementando artificialmente la concentración de pol II y GTF en ausencia de activadores. Por tanto, al menos *in vitro*, se pueden establecer condiciones en las que los activadores no son absolutamente esenciales para la formación de PIC. Estas observaciones llevaron a la **hipótesis del "reclutamiento"**, que ahora se ha probado experimentalmente. En pocas palabras, el papel de los activadores y algunos coactivadores puede ser únicamente para reclutar un complejo de holoenzima-GTF preformado para el promotor. El requisito para un dominio de activación se elude cuando un componente de TFIID o la holoenzima pol II se une artificialmente, usando técnicas de DNA recombinante, a la DBD de un activador. Este anclaje, a través del componente DBD de la molécula activadora, conduce a una estructura transcripcionalmente competente, y no hay ningún requisito adicional para el dominio de activación del activador. En esta vista, el papel de los dominios de activación es dirigir complejos de holoenzima-GTF preformados al promotor; que no ayudan en el ensamblaje de PIC (véase panel B, figura 36-11). En este modelo, la eficiencia del proceso de reclutamiento determina directamente la tasa de transcripción en un promotor dado.

CUADRO 36-4 Tres clases de factores de transcripción implicados en la transcripción del gen de mRNA

Mecanismos generales	Componentes específicos
Componentes basales	RNA polimerasa II, TBP, TFIIA, B, D, E, F, y H
Correguladores	TAFs (TBP + TAFs) = TFIID; genes determinados
	Mediador, Meds
	Modificadores de la cromatina (pCAF, p300/CBP)
	Remodeladores de cromatina (Swi/Snf)
Activadores	SP1, ATF, CTF, AP1, etc.

LAS MOLÉCULAS DE RNA SE PROCESAN ANTES DE QUE SE HAGAN FUNCIONALES

En organismos procariotas, las transcripciones primarias de los genes que codifican mRNA comienzan a servir como plantillas de traducción incluso antes de que se haya completado su transcripción. Esto puede ocurrir porque el sitio de transcripción no está compartimentado en el núcleo como lo está en organismos eucariotas. Por tanto, la transcripción y la traducción se acoplan en células procariotas. En consecuencia, los mRNA procariotas se someten a un pequeño procesamiento antes de llevar a cabo su función prevista en la síntesis de proteínas. De hecho, la regulación apropiada de algunos genes (p. ej., el operón *Trp*) se basa en este acoplamiento de transcripción y traducción. Las moléculas de rRNA y tRNA procariotas se transcriben en unidades considerablemente más largas que la molécula final. De hecho, muchas de las unidades de transcripción de tRNA codifican más de una molécula de tRNA. Por tanto, en procariotas, el procesamiento de estas moléculas precursoras de rRNA y tRNA es necesario para la generación de las moléculas funcionales maduras.

Casi todos los transcritos primarios de RNA eucariotas se someten a un procesamiento extenso entre el momento en que se sintetizan y el momento en que cumplen su función final, ya sea como mRNA, miRNA o como un componente de la maquinaria de traducción, como RNAr o tRNA. El procesamiento ocurre principalmente dentro del núcleo. Los procesos de transcripción, procesamiento de RNA e incluso el transporte de RNA desde el núcleo están altamente coordinados. De hecho, se cree que un coactivador transcripcional denominado SAGA en levaduras y P/CAF en células humanas vincula la activación de la transcripción al procesamiento del RNA mediante el reclutamiento de un segundo complejo denominado exportación de transcripción (TREX) a elongación de la transcripción, empalme y exportación nuclear. El **TREX** representa un posible enlace molecular entre los complejos de elongación de transcripción, la maquinaria de empalme de RNA y la

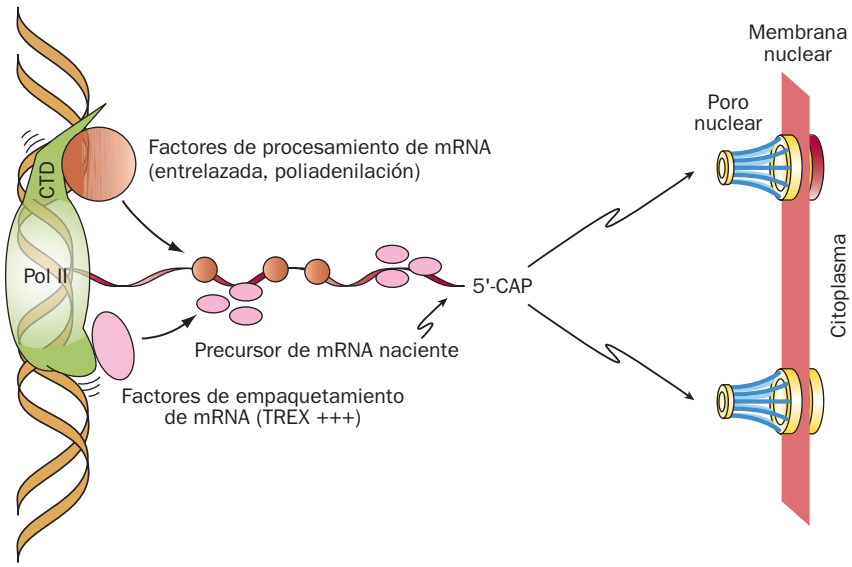


FIGURA 36-12 **La transcripción génica de mRNA mediada por RNA polimerasa está acoplada cotranscripcionalmente al procesamiento y transporte de RNA**. Se muestra RNA pol II que transcribe activamente un gen que codifica mRNA (elongación de arriba a abajo de la figura). Los factores de procesamiento de RNA (es decir, los factores de empalme que contienen motivos de SR/RRM, así como los factores de poliadenilación y terminación) interactúan con el dominio C-terminal (CTD, compuesto de múltiples copias de un heptapéptido con secuencia consenso -YSPTSPS-) de pol II , mientras que los factores de empaquetado y transporte de mRNA como complejo THO/TREX (óvalos rosados) se reclutan para el transcrito primario de mRNA naciente mediante interacciones directas de pol II como se muestra a través de interacciones con factores SR/empalme (círculos marrones) residentes en el mRNA naciente. Tenga en cuenta que el CTD no está dibujado a escala. El CTD conservado evolutivamente de la subunidad Rpb1 de pol II es en realidad de 5 a 10 veces la longitud de la polimerasa debido a sus muchas prolinas y la consiguiente naturaleza no estructurada, y por tanto un sitio de acoplamiento significativo para proteínas de procesamiento y transporte de RNA. En ambos casos, se cree que las cadenas de mRNA nacientes se procesan con mayor rapidez y precisión debido al reclutamiento inmediato de estos muchos factores a la cadena creciente de mRNA (precursor). Después de un procesamiento de mRNA apropiado, el mRNA maduro se administra a los poros nucleares (figuras 36-17, 49-4) que salpican la membrana nuclear, donde, tras el transporte a través de los poros, los mRNA pueden unirse a los ribosomas y traducirse en proteína.

exportación nuclear (**figura 36-12**). Este acoplamiento supuestamente aumenta drásticamente tanto la fidelidad como la tasa de procesamiento y movimiento del mRNA al citoplasma para la traducción.

Las porciones de codificación (exones) de la mayoría de los genes codificadores de mRNA eucariotas son interrumpidas por intrones

Las secuencias de RNA que aparecen en los RNA maduros se denominan exones. En los genes que codifican mRNA, estos exones suelen estar interrumpidos por largas secuencias de DNA que no aparecen en el mRNA maduro ni contribuyen a la información genética traducida finalmente en la secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína (véase el capítulo 35). De hecho, estas secuencias a menudo interrumpen la región codificante de los genes que codifican proteínas. Estas **secuencias intermedias**, o **intrones**, existen en la mayoría pero no en todos los genes que codifican mRNA de eucariotas superiores. Los exones génicos que codifican el mRNA humano promedian ~150nt, mientras que los intrones son mucho más heterogéneos, con un rango de 10 a 30 000 nucleótidos de longitud. Las secuencias de RNA del intrón se escinden fuera del transcrito, y los exones del transcrito se empalman apropiadamente entre sí en el núcleo antes de que la molécula de mRNA resultante se transporte al citoplasma para la traducción (**figuras 36-13** y **36-14**).

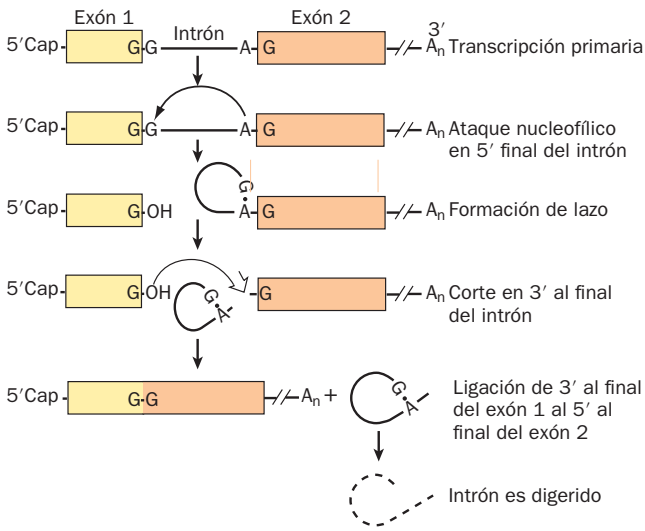


FIGURA 36-13 **El procesamiento de la transcripción primaria de mRNA.** En esta transcripción hipotética, el extremo 5'(izquierda) del intrón se corta (→) y se forma una estructura que se parece a un lazo entre el extremo Gat 5 del intrón y una A cerca del extremo 3, en la secuencia consenso UACUAAC. Esta secuencia se denomina sitio de ramificación, y es la 3' más A que forma el enlace 5' - 2' con la G. El extremo 3' (derecho) del intrón se corta (⇓). Esto libera el lazo, que se digiere, y el exón 1 se une al exón 2 en los residuos G.

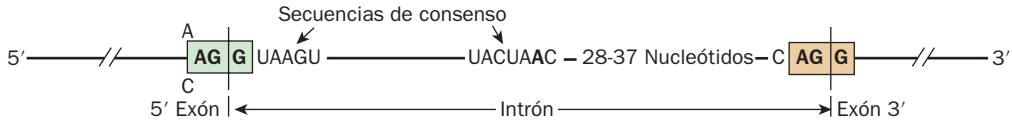


FIGURA 36-14 Secuencias de consenso en las uniones de empalme. Se muestran las secuencias 5' (donante; izquierda) y 3' (aceptor; derecha). También se muestra la secuencia de consenso de levadura (UACUAAC) para el sitio de ramificación. En células de mamífero, esta secuencia consenso es PiNPiPiPuAPi donde Pi es una pirimidina, Pu es una purina y N es cualquier nucleótido. El sitio de ramificación se localiza de 20 a 40 nucleótidos corriente arriba del sitio de empalme 3'.

Los intrones son removidos y los exones son empalmados

Se han descrito varios mecanismos de reacción de corte y empalme diferentes para la eliminación de intrones. El que se usa con mayor frecuencia en células eucariotas se describe a continuación. Aunque las secuencias de nucleótidos en los intrones de los diversos transcritos eucariotas– e incluso aquellos dentro de un solo transcrito– son bastante heterogéneos, hay secuencias razonablemente conservadas en cada una de las dos uniones exón-intrón (empalme) y en el sitio de ramificación, que se localiza de 20 a 40 nucleótidos cadena arriba del sitio de empalme 3' (véanse secuencias de consenso en la figura 36-14). Un complejo multicomponente especial, el **espliceosoma** está involucrado en la conversión de la transcripción primaria en mRNA. Los espliceosomas consisten en la transcripción primaria, cinco snRNA (U1, U2, U4, U5 y U6) y más de 60 proteínas, muchas de las cuales contienen motivos conservados de **RRM (reconocimiento de RNA)** y **SR (serina-arginina)**. Colectivamente, los cinco snRNA y las proteínas que contienen RRM/SR forman una pequeña ribonucleoproteína nuclear denominada **complejo snRNP**. Es probable que este espliceosoma penta-snRNP se forme antes de la interacción con los precursores de mRNA. Se piensa que snRNP posiciona los segmentos de RNA exón e intrón para las reacciones de empalme necesarias. La reacción de empalme comienza con un corte en la unión del 5' exón (donante a la izquierda) y el intrón (figura 36-13). Esto se logra mediante un ataque nucleófilo por un resto de adenilo en la secuencia de puntos de ramificación situada justo corriente arriba del extremo 3' de este intrón. El extremo 5' libre forma entonces una estructura de asa o lazo que está unida por un inusual enlace 5'-2' fosfodiéster a la A reactiva en la secuencia del sitio de ramificación PiNPiPiPuAPi (figura 36-14). Este residuo de adenililo se localiza típicamente de 20 a 30 nucleótidos cadena arriba del extremo 3' del intrón que se está eliminando. El sitio de ramificación identifica el sitio de empalme 3'. Se realiza un segundo corte en la unión del intrón con el 3'exón (donante a la derecha). En esta segunda reacción de transesterificación, el 3'hidroxilo del exón cadena arriba ataca al 5'-fosfato en el límite del exón-intrón corriente abajo y la estructura del lazo que contiene el intrón se libera e hidroliza. Los 5' y 3' exones se ligan para formar una secuencia continua.

Los snRNA y las proteínas asociadas son necesarios para la formación de varias estructuras e intermedios. U1 dentro del complejo snRNP se une primero por emparejamiento de bases al límite 5'exón-intrón. U2 dentro del complejo snRNP se une por emparejamiento de bases al sitio de ramificación, y esto expone el residuo A nucleófilo. U4/U5/U6 dentro del complejo snRNP media un desenrollado mediado por proteína dependiente de ATP que da como resultado la interrupción del complejo U4-U6 apareado en la base con la liberación de U4. U6 puede interactuar primero con U2 y luego con U1. Estas interacciones sirven para aproximar el sitio de empalme 5', el punto de ramificación con su A reactivo y el sitio de empalme 3'. Esta alineación es mejorada por U5. Este proceso también resulta en la formación del bucle o estructura de lazo. Los dos extremos están divididos, probablemente por el U2-U6 dentro del complejo snRNP. U6 es ciertamente esencial, ya que las células de levadura deficientes en este snRNA no son viables. Es importante tener en cuenta que el RNA sirve como agente catalítico. Esta secuencia de eventos se repite luego en genes que contienen múltiples intrones. En tales casos, se sigue un patrón definido para cada gen, aunque los intrones no se eliminan necesariamente en la secuencia 1, luego 2, luego 3, etcétera.

El empalme alternativo permite la producción de diferentes mRNA a partir de una transcripción primaria de mRNA individual, lo que aumenta el potencial genético de un organismo

El procesamiento de las moléculas de mRNA es un sitio para la regulación de la expresión génica. Patrones alternativos de empalme de mRNA son el resultado de mecanismos adaptativos y de control del desarrollo específico del tejido. Curiosamente, estudios recientes sugieren que el empalme alternativo se controla, al menos en parte, a través de marcas epigenéticas de la cromatina (p. ej., el cuadro 35-1). Esta forma de acoplamiento de la transcripción y el procesamiento de mRNA puede ser cinética y/o estar mediada por interacciones entre PTM de histonas específicas y factores de corte y empalme alternativos que pueden cargarse en transcriptos de genes de mRNA nacientes durante el proceso de transcripción (figura 36-12).

Como se mencionó anteriormente, la secuencia de eventos de corte y empalme exón-intrón generalmente sigue un orden jerárquico para un gen dado. El hecho de que se forman estructuras de RNA muy complejas durante el empalme -y que se involucran varios snRNA y proteínas- ofrece numerosas posibilidades para un cambio de este orden y para la generación de diferentes mRNA. De forma similar, el uso de sitios de poliadenilación de escisión por terminación alternativos también da como resultado la variabilidad del mRNA. Algunos ejemplos esquemáticos de estos procesos, todos los cuales ocurren en la naturaleza, se muestran en la **figura 36-15**.

No es sorprendente que los defectos en el empalme de mRNA puedan causar enfermedad. Uno de los primeros ejemplos de la importancia crítica del corte y empalme preciso fue el descubrimiento de que una forma de β-talasemia, una enfermedad en la que el gen de la β-globina de la hemoglobina está subexpresado gravemente resulta de un cambio de nucleótidos en una unión

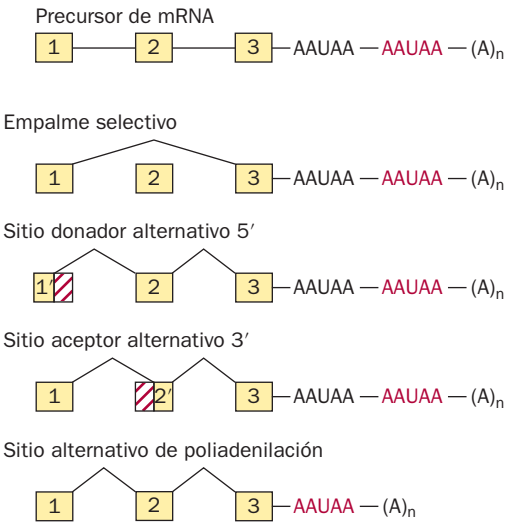


FIGURA 36-15 Mecanismos de procesamiento alternativo de precursores de mRNA. Esta forma de procesamiento de mRNA implica la inclusión o exclusión selectiva de exones, el uso de sitios alternativos de donantes 5' o 3', y el uso de diferentes sitios de poliadenilación, y aumenta drásticamente el potencial de codificación de proteínas diferenciales del genoma.

exón-intrón. Esta mutación impide la eliminación del intrón, alterando el marco de lectura traduccional del mRNA de β-globina, bloqueando de este modo la producción de proteína de la cadena β y, por tanto, la hemoglobina.

La utilización alternativa del promotor también proporciona una forma de regulación

La regulación específica de tejido de la expresión génica se puede proporcionar mediante corte y empalme alternativo, como se indicó anteriormente, mediante elementos reguladores de control de DNA en el promotor o mediante el uso de promotores alternativos. El gen de la glucocinasa (GK, *glucokinase*) consiste en 10 exones interrumpidos por 9 intrones. La secuencia de los exones del 2 al 10 es idéntica en las células β hepáticas y pancreáticas, los tejidos primarios en los que se expresa la proteína GK. La expresión del gen GK está regulada de manera muy diferente –por dos promotores diferentes– en estos dos tejidos. El promotor hepático y el exón 1L se encuentran cerca de los exones del 2 al 10; el exón 1L se liga directamente al exón 2. Por el contrario, el promotor de células β pancreáticas se localiza aproximadamente a 30 kbp corriente arriba. En este caso, el límite 3' del exón 1B se liga al límite 5' del exón 2. El promotor hepático y el exón 1L se excluyen y eliminan durante la reacción de corte y empalme (**figura 36-16**). La existencia de múltiples promotores distintos permite patrones de expresión específicos de células y tejidos de un gen particular (mRNA). En el caso de GK, la insulina y el monofosfato de adenosina cíclico (cAMP, *cyclic adenosine monophosphate*) (véase capítulo 42) controlan la transcripción de GK en el hígado, mientras que la glucosa controla la expresión de GK en las células β. Además, como se indicó anteriormente, tal variación en los mRNA empalmados también puede cambiar el potencial de proteína que codifica la proteína de estos mRNA.

Ambos RNA ribosómicos y la mayoría de los RNA de transferencia se procesan a partir de precursores más grandes

En células de mamífero, las tres moléculas de rRNA (28S, 18S, 5.8S) se transcriben como parte de una sola molécula precursora 45S grande. El precursor se procesa posteriormente en el nucléolo para proporcionar estos tres componentes de RNA para las subunidades de ribosoma que se encuentran en el citoplasma. Los genes de rRNA se encuentran en los nucléolos de las células de mamíferos. Cientos de copias de estos genes están presentes en cada célula. Se requiere esta gran cantidad de genes para sintetizar suficientes copias de cada tipo de rRNA para formar los 10^7 ribosomas necesarios para la duplicación de la ronda celular. Mientras que una sola molécula de mRNA se puede copiar en 10^5 moléculas de proteína, proporcionando una gran amplificación, los rRNA son productos finales. Esta falta de amplificación requiere una gran cantidad de genes y una tasa alta de transcripción, normalmente sincronizada con la tasa de crecimiento celular. De manera similar, los tRNA a menudo se sintetizan como precursores, con secuencias extra tanto 5' como 3' de las secuencias que comprenden el tRNA maduro. Una pequeña fracción de tRNA contiene intrones.

LOS RNA PUEDEN SER EXTENSIVAMENTE MODIFICADOS

Tal como se introdujo en la descripción de tRNA (véase la figura 34-11), esencialmente todos los RNA se modifican covalentemente después de la transcripción. Está claro que al menos algunas de estas modificaciones son regulatorias.

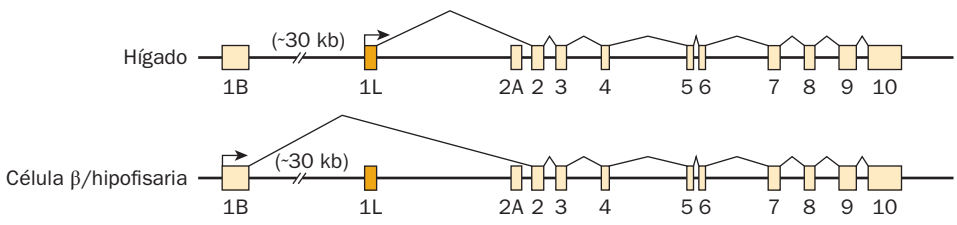


FIGURA 36-16 Uso alternativo del promotor en los genes de la glucocinasa (GK) de las células β del hígado y el páncreas. La regulación diferencial del gen de glucocinasa se logra mediante el uso de promotores específicos de tejido. El promotor del gen de la célula β GK y el exón 1B se localizan aproximadamente a 30 kbp corriente arriba del promotor hepático y el exón 1L. Cada promotor tiene una estructura única y está regulado de manera diferente. Los exones del 2 al 10 son idénticos en los dos genes, y las proteínas GK codificadas por el hígado y los mRNA de las células β tienen propiedades cinéticas idénticas.

El RNA mensajero se modifica en los extremos 5' y 3'

Los mRNA eucariotas contienen una estructura **cap de 7-metilguanosina** en su extremo 5' (véase la figura 34-10), y la mayoría tiene una **cola poli (A)** en el extremo 3'. La estructura de la caperuza se agrega al extremo 5' del precursor de mRNA recién transcrito en el núcleo, muy poco después de la síntesis y antes del transporte de la molécula de mRNA al citoplasma. La tapa 5' del transcrito de RNA es necesaria tanto para el inicio de la traducción eficiente (véase la figura 37-7) como para la protección del extremo 5' del mRNA del ataque de las 5' → 3' exonucleasas. Las metilaciones secundarias de las moléculas de mRNA, aquellas en el 2'-hidroxi y el N^7 de los residuos de adenililo, ocurren después de que la molécula de mRNA ha aparecido en el citoplasma.

Las colas poli (A) se agregan al extremo 3' de las moléculas de mRNA en una etapa de procesamiento postranscripcional. El mRNA se escinde primero alrededor de 20 nucleótidos corriente abajo de una secuencia de reconocimiento AAUAA. Otra enzima, **poli (A) polimerasa**, agrega una cola de poli (A) que posteriormente se extiende hasta 200 A de residuos. La cola de poli (A) protege el extremo 3' del mRNA del ataque de la exonucleasa 3' → 5' y facilita la traducción (véase la figura 37-7). La presencia o ausencia de la cola de poli (A) no determina si una molécula precursora en el núcleo aparece en el citoplasma, porque todas las moléculas de mRNA nuclear con cola poli (A) no contribuyen al mRNA citoplásmico, ni todas las moléculas de mRNA citoplasmático contienen colas de poli (A) (los mRNA de histona son más notables a este respecto). Después del transporte nuclear, las enzimas citoplasmáticas en células de mamífero pueden agregar y eliminar residuos de adenililo de las colas de poli (A); este proceso se ha asociado con una alteración de la estabilidad y traducibilidad del mRNA.

El tamaño de algunas moléculas de mRNA citoplásmico, incluso después de eliminar la cola de poli (A), es aún considerablemente más grande que el tamaño requerido para codificar la proteína específica para la que es una plantilla, a menudo por un factor de 2 o 3. Se producen nucleótidos adicionales en ambas regiones exónicas tanto en 5' como en 3' no traducidas (que codifican proteínas) de la región codificante; las secuencias no traducidas más largas generalmente están en el extremo 3'. Las secuencias **5'UTR** y **3'UTR** han sido implicadas en el procesamiento, transporte, almacenamiento, degradación y traducción del RNA; cada una de estas reacciones contribuye potencialmente a niveles adicionales de control de la expresión génica. Algunos de estos eventos postranscripcionales que involucran mRNA ocurren en orgánulos citoplásmicos denominados cuerpos P (véase capítulo 37).

Los micro RNA se derivan de grandes transcritos primarios mediante procesamiento nucleolítico específico

La mayoría de miRNA son transcritos por RNA pol II en **transcritos primarios** denominados **pre-miRNA**. Los pre-miRNA tienen caperuzas 5' y 3'-poliadenilado (**figura 36-17**). Los pre-miRNA se sintetizan a partir de unidades de transcripción que codifican uno o varios miRNA distintos; estas unidades de transcripción están ubicadas independientemente en el genoma o dentro del DNA intrónico de otros genes. Teniendo en cuenta esta organización, los genes que codifican miRNA deben poseer, como mínimo, un promotor, una región de codificación y señales de poliadenilación/terminación distintos. Los pre-miRNA tienen una estructura extensa de 2°, y esta estructura intramolecular se mantiene después del procesamiento por la **nucleasa Drosha-DGCR8**; la porción que contiene la horquilla de RNA se conserva, se transporta a través del poro nuclear mediante la acción de exportin 5, y una vez en el citoplasma, se procesa adicionalmente mediante el **complejo nucleasa heterodímero dicer TRBP** a **21 o 22-mer**. Finalmente, una de las dos cadenas se selecciona para cargarse en el complejo de **silenciamiento inducido por RNA (RISC, *RNA induced silencing complex*)**, que está compuesto por una de las cuatro **proteínas Argonauta (Ago 1 → 4)**, para formar un miRNA monocatenario maduro y funcional de 21-22 nt. Se producen siRNA de manera similar. Una vez en el complejo RISC, miRNA puede modular la función de mRNA por uno de tres mecanismos: a) promover la degradación de mRNA directamente; b) estimular la degradación de la cola de poli (A) mediada por complejos CCR4/NOT; o c) inhibición de la traducción dirigiéndose al factor de traducción de unión a la tapa de 5'-metilo eIF4 (véanse las figuras 37-7 y 37-8) o directamente al ribosoma. Datos recientes sugieren que al menos algunos genes reguladores que codifican miRNA pueden estar relacionados, y por tanto coevolucionar, con sus genes blanco.

La edición de RNA altera la secuencia de mRNA después de la transcripción

El dogma central afirma que para un gen y producto génico dado existe una relación lineal entre la secuencia codificante en el DNA, la del mRNA y la de la proteína (véase la figura 35-7). Los cambios en la secuencia de DNA deberían reflejarse en un cambio en la secuencia de mRNA y, dependiendo del uso del codón, en la secuencia de la proteína. Sin embargo, las excepciones de este dogma han sido documentadas. La información de codificación se puede cambiar a nivel de mRNA mediante la **edición de RNA**. En tales casos, la secuencia de codificación del mRNA difiere de la del DNA análogo. Un ejemplo es el gen y el mRNA de la apolipoproteína B (*apoB*). En el hígado, el único gen *apoB* se transcribe en un mRNA que dirige la síntesis de una proteína de 100-kDa, apoB100. En el intestino, el mismo gen dirige la síntesis del transcrito primario de mRNA idéntico; sin embargo, una citidina desaminasa convierte un codón CAA en el mRNA en UAA en un solo sitio específico. En lugar de codificar glutamina, este codón se convierte en una señal de terminación (véase el cuadro 37-1) y, por tanto, se produce la producción de una proteína truncada de 48-kDa (apoB48). ApoB100 y apoB48 tienen diferentes funciones en los dos órganos. Un número creciente de otros ejemplos incluye un cambio de glutamina en arginina en el receptor de glutamato y varios cambios en los mRNAs mitocondriales de tripanosoma, que generalmente implican la adición o eliminación de uridina. Se desconoce la extensión exacta del genoma de la edición del RNA de ancho, pero las estimaciones actuales sugieren que tal vez 0.01% de los mRNA se editan de esta manera. Recientemente, se ha descrito la edición de miRNA, lo que sugiere que estas dos formas de mecanismos de control postranscripcionales podrían contribuir cooperativamente a la regulación de genes.

El RNA de transferencia se procesa y modifica extensamente

Como se describe en los capítulos 34 y 37, las moléculas de tRNA sirven como moléculas adaptadoras para la traducción de mRNA en secuencias de proteínas. Los tRNA contienen muchas modificaciones de las bases estándar A, U, G y C, que incluyen la metilación,

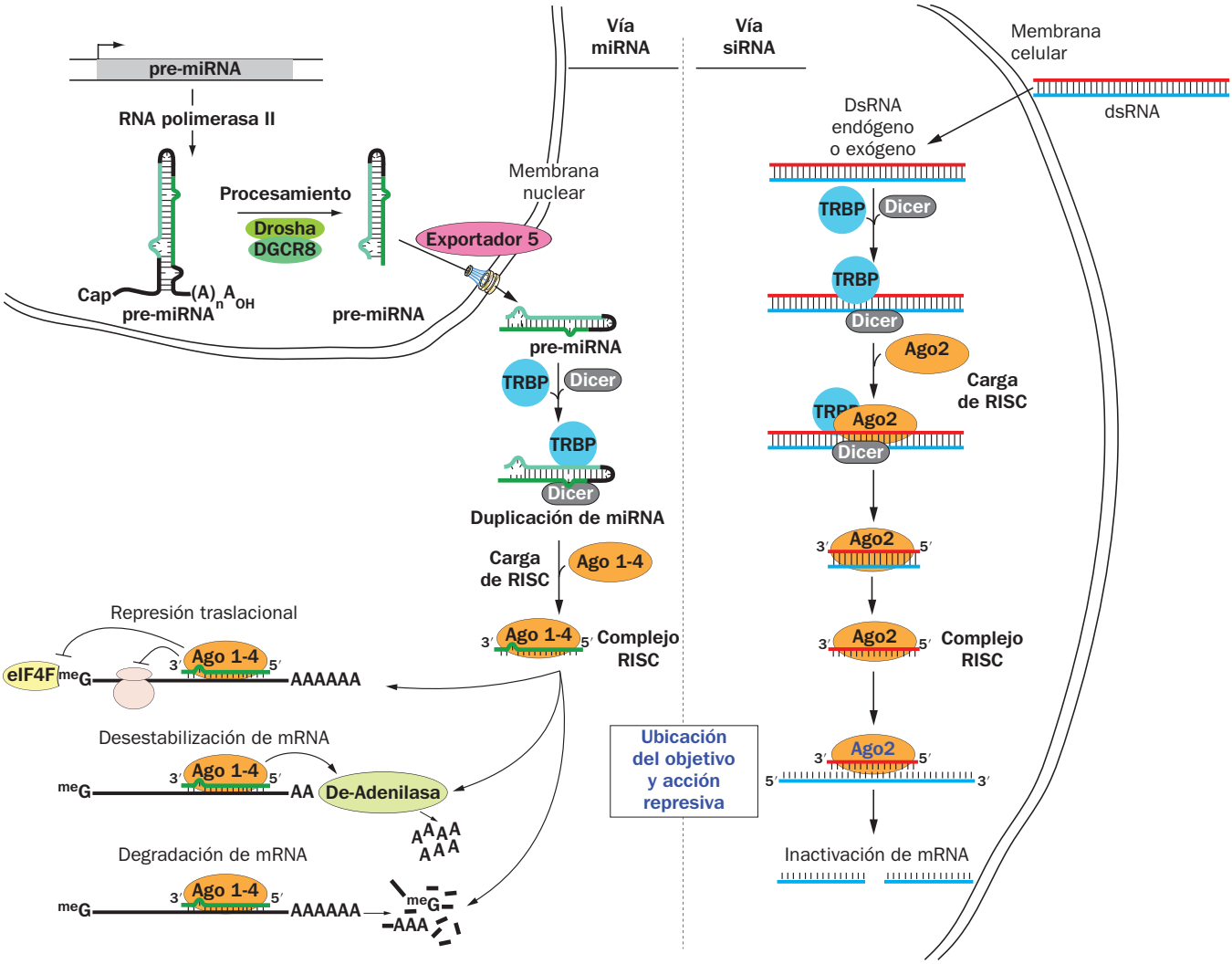


FIGURA 36-17 **Biogénesis de micro (mi) y silenciamiento (si) de RNA. (Izquierda)** Los genes que codifican miRNA son transcritos por RNA pol II en un miRNA primario (pre-miRNA), que está 5'-capsulado y poliadenilado como es típico de mRNA que codifica transcripciones primarias. Este pre-miRNA se somete a procesamiento dentro del núcleo mediante la acción de la nucleasa Drosha-DGCR8, que recorta secuencias de los extremos 5' y 3' para generar el pre-miRNA. Este RNA bicatenario parcialmente procesado se transporta a través del poro nuclear mediante exportin-5. El pre-miRNA citoplásmico se recorta adicionalmente mediante la acción de la nucleasa heterodímera denominada Dicer (TRBP-Dicer), para formar el dúplex de miRNA de 21-22nt. Se selecciona una de las dos cadenas de RNA de 21-22 nucleótidos de longitud resultante, se desenrolla el dúplex y la cadena seleccionada se carga en el complejo de silenciamiento inducido por RNA, o complejo de RISC generando de este modo el miRNA maduro y funcional. Siguiendo la localización del mRNA blanco y el recocido miRNA-mRNA de secuencia específica, el miRNA funcional puede modular la función de mRNA por uno de tres mecanismos: represión traduccional, desestabilización del mRNA por la degradación del mRNA o degradación del mRNA. (Derecha) La vía del siRNA genera siRNA funcionales a partir de grandes RNA bicatenarios que se forman intracelularmente mediante hibridación RNA-RNA (inter o intramolecular) o a partir de fuentes extracelulares, como los virus RNA. Estos dsRNA virales se procesan nuevamente a ~22nt siRNA dsRNA segmentos a través de la nucleasa heterodimer a Dicer, cargados en el complejo RISC que contiene Ago2, una cadena se selecciona para generar el siRNA que localiza secuencias de RNA diana a través de secuencias específicas RNA-siRNA. Este complejo RNA-siRNA-Ago2 diana ternario induce la escisión del RNA, que inactiva el RNA blanco.

la reducción, la desaminación y los enlaces glucosídicos reordenados. La posterior modificación postranscripcional de las moléculas de tRNA incluye alquilaciones de nucleótidos y la unión del terminal característico $CpCpA_{OH}$ en el extremo 3' de la molécula mediante la enzima nucleotidil transferasa. El 3'OH de la A ribosa es el punto de unión del aminoácido específico que debe ingresar en la reacción de polimerización de la síntesis de proteínas. La metilación de precursores de tRNA de mamífero probablemente se produce en el núcleo, mientras que la escisión y la unión de $CpCpA_{OH}$ son funciones citoplásmicas, ya que los nucleótidos terminales giran más rápidamente que las propias moléculas de tRNA. Se requieren sintetasas de aminoacilo tRNA específicas dentro del citoplasma de las células de mamíferos para la unión de los diferentes aminoácidos a los residuos de $CpCpA_{OH}$ (véase el capítulo 37).

EL RNA PUEDE ACTUAR COMO CATALIZADOR

Además de la acción catalítica servida por los RNAsn en la formación de MRNA, se han atribuido otras funciones enzimáticas al RNA. Las **ribozimas** son moléculas de RNA con actividad catalítica. Estas generalmente implican reacciones de transesterificación, y la mayoría están relacionadas con el metabolismo del RNA (empalme y endorribonucleasa). Recientemente, un componente de rRNA ha sido implicado en la hidrolización de un éster de aminoacilo y, por tanto, desempeña un papel central en la función de enlace peptídico (peptidil transferasas, véase el capítulo 37). Colectivamente, estas observaciones, hechas usando moléculas de RNA derivadas de los orgánulos de plantas, levaduras, virus y células eucariotas superiores, muestran que el RNA puede actuar como una enzima y han revolucionado el pensamiento sobre la acción enzimática y el origen de la vida misma.

RESUMEN

- El RNA se sintetiza a partir de una plantilla de DNA mediante la enzima RNA polimerasa dependiente de DNA.
- Si bien las bacterias contienen una sola RNA polimerasa ($\beta\beta\alpha_2\sigma\omega$), existen tres distintas RNA polimerasas dependientes del DNA nuclear en los mamíferos: RNA polimerasas I, II y III. Estas enzimas catalizan la transcripción de genes que codifican rRNA (pol I), mRNA/mi/siRNA/lncRNA (pol II) y tRNA y 5S rRNA (pol III).
- Las RNA polimerasas interactúan con regiones de genes *cis* activas únicas, denominadas promotores, para formar PIC capaces de iniciación. En eucariotas, el proceso de formación de pol II PIC requiere, además de la polimerasa, múltiples factores de transcripción generales (GTF), TFIIA, B, D, E, F y H.
- La formación de PIC eucariota puede ocurrir en promotores accesibles, ya sea paso a paso por las interacciones ordenadas secuenciales de los GTF y la RNA polimerasa con promotores de DNA o, en una etapa, mediante el reconocimiento del promotor por un complejo de holoenzima de la GTF-RNA polimerasa preformado.
- La transcripción exhibe tres fases: iniciación, elongación y terminación. Todos dependen de distintos elementos *cis* del DNA y pueden ser modulados por distintos factores proteicos que actúan en *trans*.
- La presencia de nucleosomas puede mejorar u obstruir la unión de ambos transfactores y la maquinaria de transcripción a sus elementos *cis* de DNA afines, con lo que modula la transcripción.
- La mayoría de los RNA eucariotas se sintetizan como precursores que contienen secuencias en exceso que se eliminan antes de la generación del RNA funcional maduro. Estas reacciones de procesamiento proporcionan pasos potenciales adicionales para la regulación de la expresión génica.
- La síntesis de mRNA eucariota da como resultado un precursor de mRNA previo que contiene cantidades extensas de RNA excesivo (intrones) que debe eliminarse con precisión mediante corte y empalme de RNA para generar mRNA traducible funcional compuesto de codificación exónica y secuencias no codificantes 5' y 3'.
- Todos los pasos, desde los cambios en la plantilla, secuencia y accesibilidad del DNA en la estabilidad y commutabilidad de la cromatina hasta el RNA, están sujetos a modulación y, por tanto, son posibles sitios de control para la regulación de genes eucariotas.

REFERENCIAS

Davis MC, Kesthely CA, Franklin EA, MacLellan SR. The essential activities of the bacterial sigma factor. *Can J Microbiol* 2017;63:89-99.

Decker KB, Hinton DM. Transcription regulation at the core: similarities among bacterial, archaeal, and eukaryotic RNA polymerases. *Ann Rev Microbiol* 2013;67:113-139.

Elkon R, Ugalde AP, Agami R. Alternative cleavage and polyadenylation: extent, regulation and function. *Nat Rev Gen* 2013;14:496-506.

Kugel JF, Goodrich JA. Finding the start site: redefining the human initiator element. *Genes Dev* 2017;31:1-2.

Lee Y, Rio DC. Mechanisms and regulation of alternative pre-mRNA splicing. *Ann Rev Biochem* 2015;84:291-323.

Miguel-Escalada I, Pasquali L, Ferrer J. Transcriptional enhancers: functional insights and role in human disease. *Curr Opin Genet Dev* 2015;33:71-76.

Niederriter AR, Varshney A, Parker SC, Martin DM. Super enhancers in cancers, complex disease, and developmental disorders. *Genes* 2015;6:1183-1200.

Nogales E, Louder RK, He Y. Cryo-EM in the study of challenging systems: the human transcription pre-initiation complex. *Curr Opin Struc Biol* 2016;40:120-127.

Proudfoot NJ. Transcriptional termination in mammals: stopping the RNA polymerase II juggernaut. *Science* 2016;352:aad9926.

Sentenac A, Riva M. Odd RNA polymerases or the A(B)C of eukaryotic transcription. *Biochim Biophys Acta* 2013;1829:251-257.

Takizawa Y, Binshtein E, Erwin AL, Pyburn TM, Mittendorf KF, Ohi MD. While the revolution will not be crystallized, biochemistry reigns supreme. *Prot Sci* 2017;26:69-81.

Venkatesh S, Workman JL. Histone exchange, chromatinstructure and the regulation of transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015;16:178-189.

Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF-KB: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell* 2017;168:37-57.

CAPÍTULO

37

La síntesis de proteínas y el código genético

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comprender que el código genético es un código de nucleótidos de tres letras, que está contenido dentro del conjunto lineal del DNA del exón (compuesto por los tripletes de A, G, C y T) de genes que codifican proteínas, y que este código de tres letras se traduce en mRNA (compuesto por tripletes de A, G, C y U) para especificar el orden lineal de la adición de aminoácidos durante la síntesis de proteínas a través del proceso de traducción.
- Notar que el código genético universal tiene redundancia, no ambigüedad, no presenta solapamiento y libre de puntuación.
- Explicar que el código genético está compuesto por 64 codones, de los cuales 61 codifican aminoácidos, mientras que los otros 3 inducen la terminación de la síntesis de proteínas.
- Describir cómo los RNA de transferencia (tRNA, *transfer RNA*) sirven como los últimos agentes informacionales que decodifican el código genético de los RNA mensajeros (mRNA, *messenger RNA*).
- Comprender el mecanismo del proceso intensivo de energía de síntesis de proteínas que se produce en los complejos de RNA-proteína denominados ribosomas.
- Apreciar que la síntesis de proteínas, como la replicación y la transcripción del DNA, se controla con precisión a través de la acción de múltiples factores auxiliares que responden a múltiples entradas de señalización reguladoras extracelulares e intracelulares.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las letras A, G, T y C corresponden a los nucleótidos encontrados en el DNA. Dentro de los genes que codifican proteínas, estos nucleótidos están organizados en códigos de tres letras llamados **codones**, y la colección de estos codones, una vez transcritos en el mRNA, conforma el **código genético**. Antes de que se dilucidara el código genético, era imposible comprender la síntesis de proteínas o explicar las mutaciones. El código proporciona una base para explicar la forma en que los defectos proteicos pueden causar enfermedades genéticas y para el diagnóstico y tal vez el tratamiento de estos trastornos. Además, la fisiopatología de muchas infecciones virales está relacionada con la capacidad de estos agentes infecciosos para alterar la síntesis de proteínas de la célula huésped. Muchos fármacos antibacterianos son eficaces porque alteran de modo selectivo la síntesis de proteínas en la célula bacteriana invasora, pero no afectan la síntesis de proteínas en células eucariotas.

LA INFORMACIÓN GENÉTICA FLUYE DEL DNA AL RNA Y A LA PROTEÍNA

La información genética dentro de la secuencia de nucleótidos del DNA se transcribe en el núcleo en la secuencia de nucleótidos específica de una molécula de mRNA. La secuencia de nucleótidos en la transcripción de RNA es complementaria a la secuencia de nucleótidos de la cadena plantilla de su gen de acuerdo con las reglas de emparejamiento de bases. Varias clases diferentes de RNA se combinan para dirigir la síntesis de proteínas.

En organismos procariotas hay una correspondencia lineal entre el gen, el **RNA mensajero (mRNA)** transcrito del gen y el producto polipeptídico. La situación es más complicada en células eucariotas superiores, en las que la transcripción primaria es mucho más grande que el mRNA maduro. Los precursores grandes de mRNA contienen regiones codificantes **(exones)** que formarán

el mRNA maduro y las secuencias intermedias largas **(intrones)** que separan los exones. El mRNA se procesa dentro del núcleo, y los intrones, que forman mucho más de este RNA que los exones, se eliminan. Estos se unen para formar mRNA maduro, el cual se transporta al citoplasma, donde se traduce en proteínas (véase capítulo 36).

La célula debe poseer la maquinaria necesaria para traducir la información de manera precisa y eficiente de la secuencia de nucleótidos de un mRNA a la secuencia de aminoácidos de la proteína específica correspondiente. La aclaración de nuestra comprensión acerca de este proceso, que se denomina **traducción**, esperaba por el desciframiento del código genético. Se comprendió desde temprano que las moléculas de mRNA no tienen afinidad por los aminoácidos y, por tanto, que la traducción de la información en la secuencia de nucleótidos del mRNA en la secuencia de aminoácidos de una proteína requiere una molécula adaptadora intermedia. Esta molécula adaptadora debe reconocer una secuencia de nucleótidos específica por un lado, así como un aminoácido específico por el otro. Con una molécula adaptadora de este tipo, la célula puede dirigir un aminoácido específico a la posición secuencial apropiada de una proteína durante su síntesis, según lo dictado por la secuencia de nucleótidos del mRNA específico. De hecho, los grupos funcionales de los aminoácidos no entran realmente en contacto con la plantilla de mRNA.

LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDOS DE UNA MOLÉCULA DE MRNA CONTIENE UNA SERIE DE CODONES QUE ESPECIFICAN LA SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE LA PROTEÍNA CODIFICADA

Se requieren veinte aminoácidos diferentes para la síntesis del complemento celular de las proteínas; por tanto, debe haber al menos 20 codones distintos que conformen el código genético. Como sólo hay cuatro nucleótidos diferentes en el mRNA, cada codón debe consistir en más de un solo nucleótido de purina o pirimidina. Los codones que constan de dos nucleótidos podrían proporcionar sólo 16 (es decir, 4^2) codones distintos, mientras que los codones de tres nucleótidos podrían proporcionar 64 (4^3) codones específicos.

Hoy se sabe que cada codón consiste en una secuencia de tres nucleótidos; es decir, **es un código triplete** (**cuadro 37-1**). El desciframiento inicial del **código genético** dependió en gran medida de la síntesis *in vitro* de polímeros de nucleótidos, en particular tripletes en secuencia repetida. Estos tripletes de ribonucleótidos sintéticos se usaron como mRNA para programar la síntesis de proteínas en el tubo de ensayo, lo que permitió a los investigadores deducir el código genético.

EL CÓDIGO GENÉTICO TIENE REDUNDANCIA, NO AMBIGÜEDAD; NO TIENE SOLAPAMIENTO, SIN PUNTUACIÓN Y ES UNIVERSAL

Tres de los 64 posibles codones no codifican aminoácidos específicos; estos han sido denominados **codones sin sentido**. Estos se utilizan en la célula como señales de **terminación de la traducción**; especifican dónde se detiene la polimerización de aminoácidos en una molécula de proteína. Los 61 codones restantes codifican los 20 aminoácidos naturales (cuadro 37-1). Por tanto, hay "**redundancia**" en el código genético, es decir, múltiples codones decodifican el mismo aminoácido. Algunos aminoácidos están codificados por varios codones; por ejemplo, seis codones diferentes, UCU, UCC, UCA, UCG, AGU y AGC especifican la serina. Otros aminoácidos, como la metionina y el triptófano, tienen un solo codón. En general, el tercer nucleótido en un codón es menos importante que los dos primeros para determinar el aminoácido específico que se va a incorporar, y esto explica la mayor parte de la degeneración del código. Sin embargo, para cualquier codón específico, sólo se especifica un único aminoácido; con raras excepciones, el código genético **no es ambiguo**, es decir, dado un codón específico, sólo se indica un único aminoácido. La distinción entre **ambigüedad** y **redundancia** es un concepto importante.

El código no ambiguo pero degenerado se puede explicar en términos moleculares. El reconocimiento de codones específicos en el mRNA por las moléculas adaptadoras del tRNA depende de la **región del anticodón** del tRNA y de las reglas de emparejamiento de bases específicas que determinan la unión del codón tRNA-

CUADRO 37-1 El código genético[a] (asignaciones de codones en RNA mensajeros de mamíferos)

Primer nucleótido	Segundo nucleótido				Tercer nucleótido
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term	Term[b]	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile[a]	Thr	Lys	Arg[b]	A
	Met	Thr	Lys	Arg[b]	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

[a] Los términos primero, segundo y tercer nucleótido se refieren a los nucleótidos individuales de un codón triplete leído 5′-3′, de izquierda a derecha. A (*adenine nucleotide*): nucleótido de adenina; C (*cytosine nucleotide*): nucleótido de citosina; G (*guanine nucleotide*): nucleótido de guanina; Term (*chain terminator codon*): codón terminador de cadena; U (*uridine nucleotide*): nucleótido de uridina. AUG, que codifica para Met, sirve como el codón iniciador en células de mamíferos y también codifica para las metioninas internas en una proteína. (Las abreviaturas de aminoácidos se explican en capítulo 3).
[b] En las mitocondrias de mamíferos, los códigos AUA para Met y UGA para Trp, y AGA y AGG sirven como terminadores de cadena.

mRNA. Cada molécula de tRNA contiene una secuencia específica, complementaria a un codón, que se denomina su anticodón. Para un codón dado en el mRNA, sólo una especie **única** de molécula de tRNA posee el anticodón adecuado. Dado que cada molécula de tRNA puede cargarse con sólo un aminoácido específico, cada codón especifica, por consiguiente, sólo un aminoácido. Sin embargo, algunas moléculas de tRNA pueden utilizar el anticodón para reconocer más de un codón. Con pocas excepciones, dado un codón específico, sólo se incorporará un aminoácido específico, aunque, dado un aminoácido específico, se puede usar más de un codón. Como se analiza más abajo, la lectura del código genético durante el proceso de síntesis de proteínas no implica ninguna superposición de codones. Por tanto, el código genético **no es superpuesto**. Además, una vez que la lectura comienza en un codón de inicio específico, **no hay puntuación** entre los codones, y el mensaje se lee en una secuencia continua de tripletes de nucleótidos hasta que se alcanza un codón de detención de la traducción.

Hasta hace poco, se pensaba que el código genético era universal. Ahora se ha demostrado que el conjunto de moléculas de tRNA en las mitocondrias (que contienen su propio conjunto separado de maquinaria de traducción) de organismos eucariotas inferiores y superiores, incluyendo a los humanos, lee cuatro codones de forma diferente a las moléculas de tRNA en el citoplasma, incluso, de las mismas células. Como se señala en una nota al pie del cuadro 37-1, en mitocondrias de mamíferos, el codón AUA se lee como Met y UGA se codifica como Trp. Además, en las mitocondrias, los codones AGA y AGG se leen como codones terminadores de cadena o de parada en lugar de Arg. Como resultado de estos cambios específicos del organelo en el código genético, las mitocondrias requieren sólo 22 moléculas de tRNA (véase figura 35-8 para la ubicación de estos genes en el mrDNA) para leer su código genético, mientras que el sistema de traducción citoplásmica posee un complemento completo de 31 especies de tRNA. Habiendo establecido estas excepciones, el código genético es **universal**. La frecuencia de uso de cada codón de aminoácido varía de forma considerable entre especies y entre diferentes tejidos dentro de una especie. Los niveles específicos de tRNA reflejan por lo general estos sesgos de uso de codones. Por tanto, un codón utilizado en abundancia se decodifica mediante un tRNA específico igualmente abundante que reconoce ese codón particular. Las tablas de **uso de codones** son bastante precisas ahora que muchos genomas han sido secuenciados y tal información es vital para la producción a gran escala de proteínas para fines terapéuticos (es decir, insulina, eritropoyetina). Dichas proteínas se producen a menudo en células no humanas utilizando tecnología de DNA recombinante (véase capítulo 39). Las principales características del código genético se enumeran en el **cuadro 37-2**.

CUADRO 37-2 Características del código genético

- Degenerado
- No ambiguo
- No superpuesto
- No puntuado
- Universal

EXISTE AL MENOS UNA ESPECIE DE TRNA PARA CADA UNO DE LOS 20 AMINOÁCIDOS

Las moléculas de tRNA tienen funciones muy similares y estructuras tridimensionales. La función adaptadora de las moléculas de tRNA requiere la carga de cada tRNA específico con su aminoácido específico. Dado que no hay afinidad de ácidos nucleicos para grupos funcionales específicos de aminoácidos, este reconocimiento debe llevarse a cabo mediante una molécula de proteína capaz de reconocer tanto una molécula de tRNA específico como un aminoácido específico. Se requieren al menos 20 enzimas específicas para estas funciones de reconocimiento específicas y para la unión apropiada de los 20 aminoácidos a moléculas específicas de tRNA. Este proceso de reconocimiento y fijación que requiere energía, **carga de aminoácido del tRNA**, avanza en dos etapas y es catalizado por una enzima para cada uno de los 20 aminoácidos. Estas enzimas se denominan **aminoacil-tRNA sintetasas**. Forman un intermedio activado del complejo enzimático aminoacil-AMP (**figura 37-1**). Este reconoce luego un tRNA específico al que se une el resto aminoacil en el terminal adenosil 3'-hidroxilo. Las reacciones de carga tienen un índice de error de menos de 10^{-4}, por lo que son bastante precisas. El aminoácido permanece unido a su tRNA específico en un enlace éster hasta que se incorpora en una posición específica durante la síntesis de un polipéptido en el ribosoma.

Las regiones de la molécula de tRNA a las que se hace referencia en el capítulo 34 (e ilustradas en la figura 34-11) ahora se vuelven importantes. El **brazo de ribotimidina pseudouridina citidina**

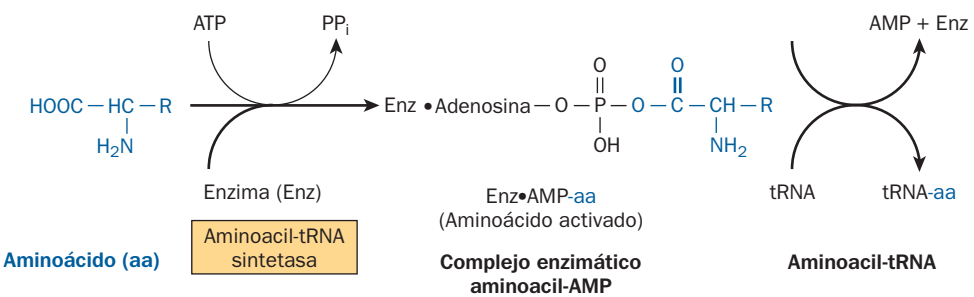


FIGURA 37-1 Formación de aminoacil-tRNA. Una reacción en dos etapas, que implica a la enzima aminoacil-tRNA sintetasa, da como resultado la formación de aminoacil-tRNA. La primera reacción implica la formación de un complejo enzimático AMP-aminoácido. Este aminoácido activado se transfiere a continuación a la molécula de tRNA correspondiente. El AMP y la enzima son liberados, y esta última puede ser reutilizada. Las reacciones de carga tienen una tasa de error (es decir, esterificación del aminoácido incorrecto en $tRNA^{XXX}$) de menos de 1 evento de exclusión de 10^4 eventos de carga de aminoácidos.

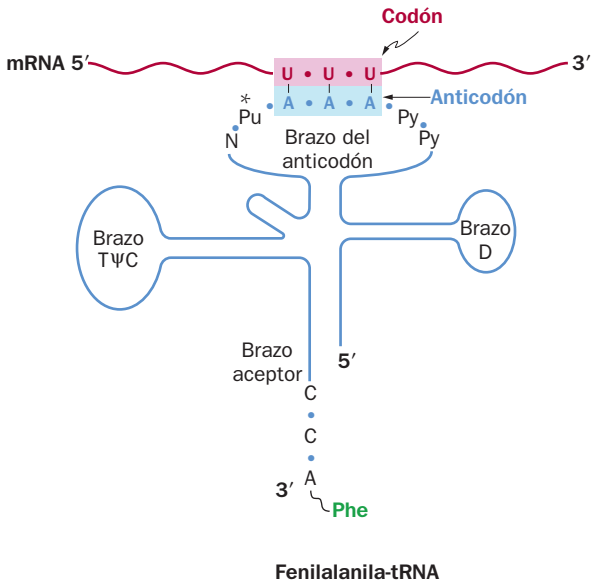


FIGURA 37-2 Reconocimiento del codón por el anticodón. Uno de los codones para la fenilalanina es UUU. El tRNA cargado con fenilalanina (Phe, *phenylalanine*) tiene la secuencia complementaria AAA; por tanto, forma un complejo de pares de bases con el codón. La región del anticodón (brazo) está compuesto típicamente de una secuencia de siete nucleótidos: variable (N), purina modificada (Pu*, *purine*), X, Y, Z (aquí, AAA) y dos pirimidinas (Py, *pyrimidines*) en la dirección 3'a 5'.

(TψC) está involucrado en la unión del aminoacil-tRNA a la superficie ribosomal en el sitio de la síntesis de proteínas. El **brazo de tRNA D** es uno de los sitios importantes para la correcta selección de una determinada especie de tRNA por su propia aminoacil-tRNA sintetasa. El **brazo aceptor de tRNA**, ubicado en el terminal 3'-hidroxilo adenosilo, es el sitio de unión del aminoácido específico.

La región del anticodón (brazo) se compone de siete nucleótidos, y reconoce el codón de tres letras en el mRNA (**figura 37-2**). La secuencia leída desde la dirección 3' a 5' en ese bucle de anticodón consta de una base variable (N), purina modificada (Pu*), XYZ (el anticodón), pirimidina (Py), pirimidina (Py)-5'. Tenga en cuenta que esta dirección de lectura del anticodón es 3'-5', mientras que el código genético en el cuadro 37-1 se lee 5'-3', ya que el codón y el bucle de anticodón de las moléculas de mRNA y tRNA, respectivamente, son antiparalelas en su complementariedad al igual que todas las demás interacciones intermoleculares entre las cadenas de ácido nucleico.

La degeneración del código genético reside principalmente en el último nucleótido del triplete del codón, lo que sugiere que el emparejamiento de bases entre este último nucleótido y el nucleótido correspondiente del anticodón no se corresponde de forma estricta con la regla de Watson-Crick. Esto se llama **tambaleo**; el emparejamiento del codón y el anticodón puede "tambalearse" en este sitio específico de emparejamiento nucleótido a nucleótido. Por ejemplo, los dos codones para la arginina, AGA y AGG, pueden unirse al mismo anticodón que tiene un uracilo en su extremo 5' (UCU). De forma similar, tres codones para la glicina, GGU, GGC y GGA, pueden formar un par de bases a partir de un anticodón, 3' CCI 5' (es decir, la inosina (I, *inosine*) puede formar par de bases con U, C y A). La inosina se genera por la desaminación de la adenina (véase figura 33-2 para la estructura).

LAS MUTACIONES OCURREN CUANDO SE PRODUCEN CAMBIOS EN LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDOS

Aunque el cambio inicial puede no producirse en la cadena plantilla de la molécula de doble cadena de DNA para ese gen, después de la replicación, las moléculas de DNA hijas con mutaciones en la cadena plantilla se segregarán y aparecerán en la población de organismos.

Algunas mutaciones ocurren por sustitución de base

Los cambios de una sola base **(mutaciones puntuales)** pueden ser **transiciones** o **transversiones**. En el primero, una pirimidina dada se cambia a la otra pirimidina o una purina dada se cambia a la otra purina. Las transversiones son cambios de una purina a cualquiera de las dos pirimidinas o el cambio de una pirimidina en cualquiera de las dos purinas, como se muestra en la **figura 37-3**.

Cuando la secuencia de nucleótidos de un gen codificador de proteínas que contiene la mutación se transcribe en una molécula de mRNA, entonces la molécula de RNA poseerá naturalmente el cambio de base en la ubicación correspondiente.

Los cambios de una sola base en el mRNA pueden tener uno de varios efectos cuando se traducen en la proteína:

1. Puede que no haya un efecto detectable debido a la degeneración del código; tales mutaciones se denominan a menudo **mutaciones silenciosas**. Esto sería más probable si la base modificada en la molécula de mRNA fuera el tercer nucleótido de un codón. Debido a la oscilación, la traducción de un codón es menos sensible a un cambio en la tercera posición.

2. Se producirá un **efecto con cambio de sentido** cuando se incorpore un aminoácido diferente en el sitio correspondiente en la molécula de la proteína. Este aminoácido erróneo, o con cambio de sentido, dependiendo de su ubicación en la proteína específica, podría ser aceptable, parcialmente aceptable o inaceptable para la función de esa molécula de proteína. A partir de un examen cuidadoso del código genético, se puede concluir que la mayoría de los cambios de una sola base darían lugar a la sustitución de un aminoácido por otro con grupos funcionales bastante similares. Este es un mecanismo genético eficaz de "amortiguación" para evitar un cambio drástico en

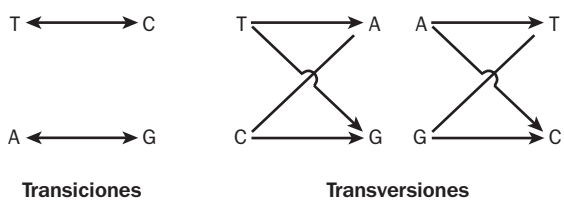


FIGURA 37-3 Representación diagramática de mutaciones de transición y transversión.

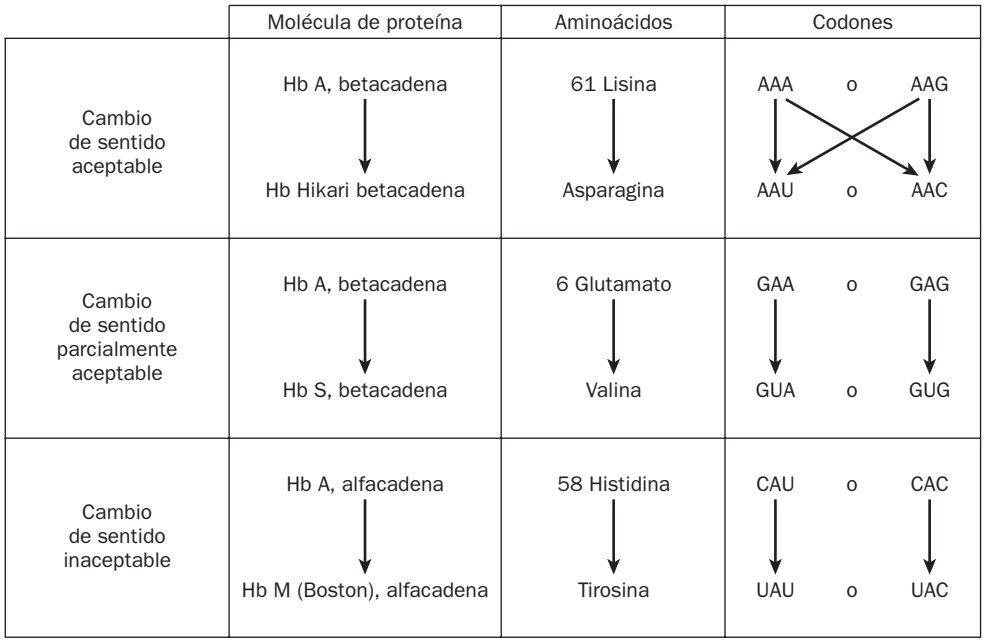


FIGURA 37-4 Ejemplos de tres tipos de mutaciones con cambio de sentido que dan como resultado cadenas de hemoglobina anómalas. Se indican las alteraciones de aminoácidos y las posibles alteraciones en los codones respectivos. La mutación de la betacadena de la hemoglobina Hikari tiene propiedades fisiológicas normales en apariencia, pero está alterada electroforéticamente. La hemoglobina S tiene una mutación de la betacadena y una función parcial; la hemoglobina S se une al oxígeno, pero se precipita cuando está desoxigenada; esto causa que los glóbulos rojos adquieran una forma de hoz, y representa la base celular y molecular de la enfermedad de células falciformes (véase figura 6-13). La hemoglobina M Boston, una mutación de la alfacadena, permite la oxidación del hierro ferroso hem al estado férrico y, por tanto, no se unirá al oxígeno en absoluto.

las propiedades físicas de una molécula de proteína. Si se produce un efecto con cambio de sentido aceptable, la molécula de proteína resultante puede que no se distinga de la normal. Un cambio de sentido parcialmente aceptable dará como resultado una molécula de proteína con función parcial pero anormal. Si se produce un efecto con cambio de sentido inaceptable, entonces la molécula de proteína no podrá funcionar normalmente.

3. Puede aparecer un codón **sin sentido** que luego daría como resultado la **terminación prematura** de la traducción y la producción de sólo un fragmento de la molécula de proteína deseada. Hay una probabilidad alta de que una molécula de proteína terminada de manera prematura o un fragmento de péptido no desempeñe su función normal. Los ejemplos de los diferentes tipos de mutaciones y sus efectos sobre el potencial de codificación del mRNA se presentan en las **figuras 37-4** y **37-5**.

Las mutaciones de cambio de marco resultan de la eliminación o inserción de nucleótidos en el DNA que genera mRNA alterados

La eliminación de un único nucleótido de la cadena codificante de un gen da como resultado un marco de lectura alterado en el mRNA. La maquinaria que traduce el mRNA no reconoce que faltaba una base, ya que no hay puntuación en la lectura de los codones. Por tanto, se produce una alteración importante en la secuencia de aminoácidos polimerizados, como se representa en el ejemplo 1, figura 37-5. La alteración del marco de lectura da como resultado una traducción indescifrable del mRNA distal a la eliminación de un solo nucleótido.

No sólo es indescifrable la secuencia de aminoácidos distal a esta eliminación, sino que la lectura del mensaje también puede dar como resultado la aparición de un codón sin sentido y, por tanto, la producción de un polipéptido, tanto distorsionado como terminado de manera prematura (ejemplo 3, figura 37-5).

Si se eliminan tres nucleótidos o un múltiplo de tres nucleótidos de una región codificante, la traducción del mRNA correspondiente generará una proteína a la que le falta el número correspondiente de aminoácidos (ejemplo 2, figura 37-5). Debido a que el marco de lectura es un triplete, la fase de lectura no se verá afectada por esos codones distales a la eliminación. Sin embargo, si la eliminación de uno o dos nucleótidos ocurre justo antes o dentro del codón de terminación normal (codón sin sentido), la lectura de la señal de terminación normal se altera. Tal eliminación podría dar como resultado una lectura a través de la señal de terminación ahora "mutada" hasta que se encuentre otro codón sin sentido (no mostrado aquí).

Las inserciones de uno o dos múltiplos o no múltiplos de tres nucleótidos en un gen dan como resultado un mRNA en el que el marco de lectura se distorsiona tras la traducción, y los mismos efectos que ocurren con las eliminaciones se reflejan en la traducción del mRNA. Esto puede dar como resultado secuencias de aminoácidos indescifrables distales a la inserción y la generación de un **codón sin sentido** en, o distal a la inserción, o quizás una lectura a través del codón de terminación normal. Después de una deleción en un gen, una inserción (o viceversa) puede restablecer el marco

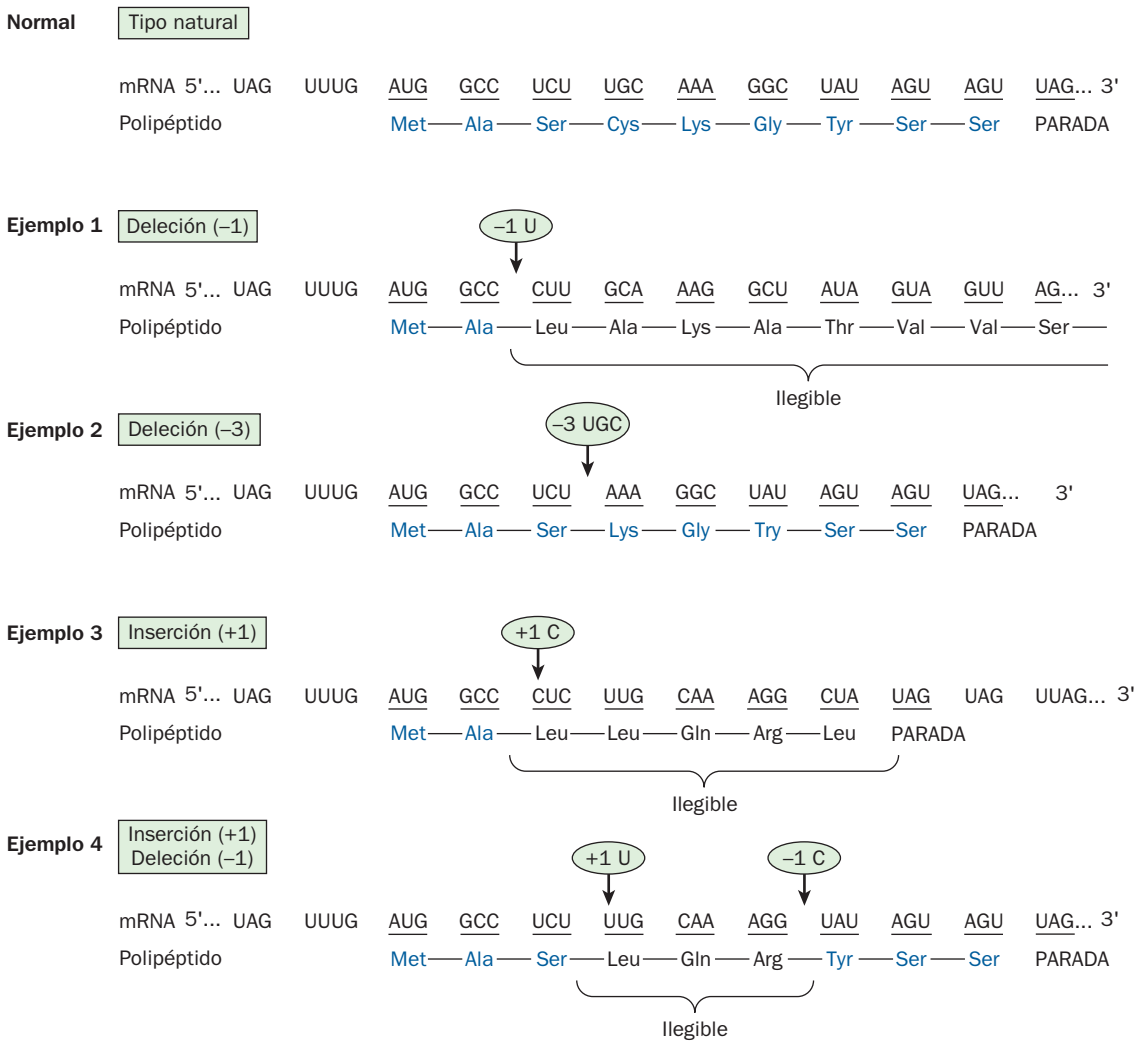


FIGURA 37-5 Ejemplos de los efectos de deleciones e inserciones en un gen en la secuencia de la transcripción de mRNA y de la cadena polipeptídica traducida a partir de aquella. Las flechas indican los sitios de deleciones o inserciones, y los números en los óvalos refieren la cantidad de residuos de nucleótidos eliminados o insertados. El tipo de color indica los aminoácidos correctos en el orden correcto.

de lectura adecuado (ejemplo 4, figura 37-5). El mRNA correspondiente, al traducirse, contendría una secuencia de aminoácidos distorsionada entre la inserción y la eliminación. Más allá del restablecimiento del marco de lectura, la secuencia de aminoácidos sería correcta. Se puede imaginar que diferentes combinaciones de **inserciones o deleciones** (es decir, **indels**), o de ambas, darían como resultado la formación de una proteína en la que una porción es anómala, pero esta porción está rodeada por las secuencias de aminoácidos normales. Tales fenómenos se han demostrado de forma convincente en varias enfermedades humanas.

Las mutaciones supresoras pueden contrarrestar algunos de los efectos de las mutaciones con cambio de sentido, sin sentido y de cambio de marco.

La discusión anterior sobre los productos proteicos alterados de las mutaciones génicas se basa en la presencia de moléculas de tRNA que funcionan normalmente. Sin embargo, en organismos procariotas y organismos eucariotas inferiores, se han descubierto moléculas de tRNA que funcionan anormalmente y que en sí mismas son el resultado de mutaciones. Algunas de estas moléculas de tRNA anómalas son capaces de unirse y decodificar codones alterados, suprimiendo así los efectos de las mutaciones en genes estructurales mutados y diferentes que codifican mRNA. Estas **moléculas supresoras de tRNA**, generalmente formadas como resultado de alteraciones en sus regiones de anticodón, son capaces de suprimir ciertas mutaciones sin sentido, mutaciones con cambio de sentido y mutaciones de desplazamiento del marco. Sin embargo, dado que las moléculas supresoras de tRNA no son capaces de distinguir entre un codón normal y uno que resulta de una mutación genética, su presencia en la célula, por lo general, da como resultado una disminución de la viabilidad. Por ejemplo, las moléculas supresoras sin sentido de tRNA pueden suprimir las señales de terminación normales para permitir una lectura cuando no es deseable. Las moléculas supresoras de cambio de marco de tRNA pueden leer un codón normal más un componente de un codón yuxtapues-

to para proporcionar un cambio de marco, también cuando no es deseable. Las moléculas supresoras de tRNA pueden existir en células de mamíferos, ya que en alguna ocasión se ha observado la lectura de la traducción. En el contexto del laboratorio, tales tRNA supresores, junto con variantes mutadas de aminoacil-tRNA sintetasas, pueden utilizarse para incorporar aminoácidos no naturales en ubicaciones definidas dentro de genes alterados que llevan mutaciones sin sentido creadas. Las proteínas etiquetadas resultantes se pueden usar para el entrecruzamiento *in vivo* e *in vitro* y estudios biofísicos. Esta nueva herramienta resulta de gran importancia para los biólogos interesados en estudiar los mecanismos de una amplia gama de procesos biológicos.

AL IGUAL QUE LA TRANSCRIPCIÓN, LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS SE PUEDE DESCRIBIR EN TRES FASES: INICIACIÓN, ELONGACIÓN Y TERMINACIÓN

Las características estructurales generales de los ribosomas se analizan en el capítulo 34. Estas entidades particuladas sirven como la maquinaria sobre la cual se traduce la secuencia de nucleótidos del mRNA en la secuencia de aminoácidos de la proteína especificada. La traducción del mRNA comienza cerca de su extremo 5' con la formación del extremo amino correspondiente de la molécula de proteína. El mensaje se decodifica desde 5' a 3', concluyendo con la formación del terminal carboxilo de la proteína. De nuevo, el concepto de **polaridad** es evidente. Como se describe en el capítulo 36, la transcripción de un gen en el mRNA correspondiente o su precursor forma primero el extremo 5' de la molécula de RNA. En organismos procariotas, esto permite el comienzo de la traducción del mRNA antes de que se complete la transcripción del gen. En organismos eucariotas, el proceso de transcripción es nuclear, mientras que la traducción del mRNA ocurre en el citoplasma, lo que impide la transcripción y traducción simultáneas en organismos eucariotas y permite el procesamiento necesario para generar mRNA maduro a partir del transcriptor primario.

La iniciación implica varios complejos de proteína-RNA

La iniciación de la síntesis de proteína eucariota requiere que se seleccione una molécula de mRNA para su traducción por un ribosoma (**figura 37-6**). Una vez que el mRNA se une al ribosoma, este último debe localizar el codón de iniciación estableciendo así el marco de lectura correcto en el mRNA, y comienza la traducción. Este proceso implica tRNA, rRNA, mRNA y al menos **10 factores de iniciación eucariotas** (**eIF,** *eukaryotic initiation factors*), algunos de los cuales tienen múltiples (de tres a ocho) subunidades. Están implicados también GTP, ATP y aminoácidos. La iniciación se puede dividir en tres momentos, todos los cuales están precedidos de forma obligatoria por la disociación del ribosoma 80S en sus subunidades constituyentes 40S y 80S: 1) unión de un complejo ternario que consiste en el **iniciador metionil-tRNA**, (**met-tRNA^{i}**), GTP y eIF-2 al ribosoma 40S para formar el **complejo de preiniciación 43S**; 2) unión del mRNA al complejo de preiniciación 40S para formar el **complejo de iniciación 48S**; y 3) combinación del complejo de iniciación 48S con la subunidad ribosómica 60S para formar el **complejo de iniciación 80S**.

Disociación ribosomal

Antes de la iniciación, los ribosomas 80S se disocian en las subunidades componentes 40S y 60S durante la terminación de la traducción (véase más adelante). La disociación permite que estos componentes participen en series de traducción posteriores. Dos factores de iniciación, **eIF-3**, **eIF-1** y **eIF-1A**, se unen a la subunidad ribosómica 40S recientemente disociada. Esto retrasa su reasociación con la subunidad 60S y permite que otros factores de iniciación de la traducción se asocien con la subunidad 40S.

Formación del complejo de preiniciación 43S

El primer paso del inicio de la traducción implica la unión de GTP por eIF-2. Este complejo binario se une luego al **metionil tRNA^{i}**, un tRNA específicamente involucrado en la unión al codón de inicio AUG. Es importante tener en cuenta que hay dos tRNA para la metionina. Uno especifica la metionina para el codón iniciador, el otro para las metioninas internas. Cada uno tiene una secuencia de nucleótidos única; ambos están aminoacilados por la misma metionil-tRNA sintetasa. El complejo ternario GTP-eIF-2-tRNA^{i} se une a la subunidad ribosómica 40S para formar el complejo de preiniciación 43S. El complejo ternario-complejo de la subunidad 40S se estabiliza mediante eIF-3 y eIF-1A y la unión posterior de **eIF5**.

El eIF-2 es uno de los dos puntos de control para la iniciación de la síntesis de proteínas en células eucariotas. Consta de subunidades α, β y γ. **El eIF-2α está fosforilado** (en serina 51) por al menos **cuatro proteínas quinasas diferentes (HCR, PKR, PERK** y **GCN2)** que se activan cuando una célula está bajo estrés y cuando el gasto de energía requerido para la síntesis de proteínas es perjudicial. Tales condiciones incluyen la inanición de aminoácidos o glucosa, la infección viral, la presencia intracelular de grandes cantidades de proteínas mal plegadas (estrés del retículo endoplásmico [ER, *endoplasmic reticulum*]), privación de suero, hiperosmolalidad y choque térmico. La PKR es particularmente interesante en este sentido. Esta quinasa se activa por un virus y proporciona un mecanismo de defensa del huésped que disminuye la síntesis de proteínas, incluyendo la síntesis de proteínas virales, inhibiendo así la replicación viral. El eIF-2α fosforilado se une estrechamente e inactiva la proteína eIF-2B de reciclaje de GTP-GDP, evitando así la formación del complejo de preiniciación 43S y bloqueando la síntesis de proteínas.

Formación del complejo de iniciación 48S

Como se describe en el capítulo 36, los extremos 5' de las moléculas de mRNA en células eucariotas están "cubiertos". La cubierta de ^{7me}G facilita la unión del mRNA al complejo de preiniciación 43S. Un **complejo de proteína de unión a cubierta**, **eIF-4F (4F)**, que consiste en **eIF-4E (4E)** y el **complejo eIF-4G (4G)-eIF-4A (4A)**, se une a la cubierta a través de la proteína 4E. Luego, **eIF-4B (4B)** se une y reduce la compleja estructura secundaria del extremo 5' del mRNA a través de su actividad helicasa dependiente de ATP. La asociación del mRNA con el complejo de preiniciación 43S para formar el complejo de iniciación 48S requiere la hidrólisis de ATP. La eIF-3 es una proteína clave porque se une con alta afinidad al componente 4G de 4F y une este complejo a la subunidad ribosómica 40S. Después de la asociación del complejo de preiniciación 43S con el límite de mRNA, y la reducción ("fusión") de la estructura secundaria cerca del extremo 5' del mRNA a través de la acción de la helicasa 4B y el ATP, el complejo traslada 5' → 3 'y explora el mRNA para un codón de iniciación adecuado.

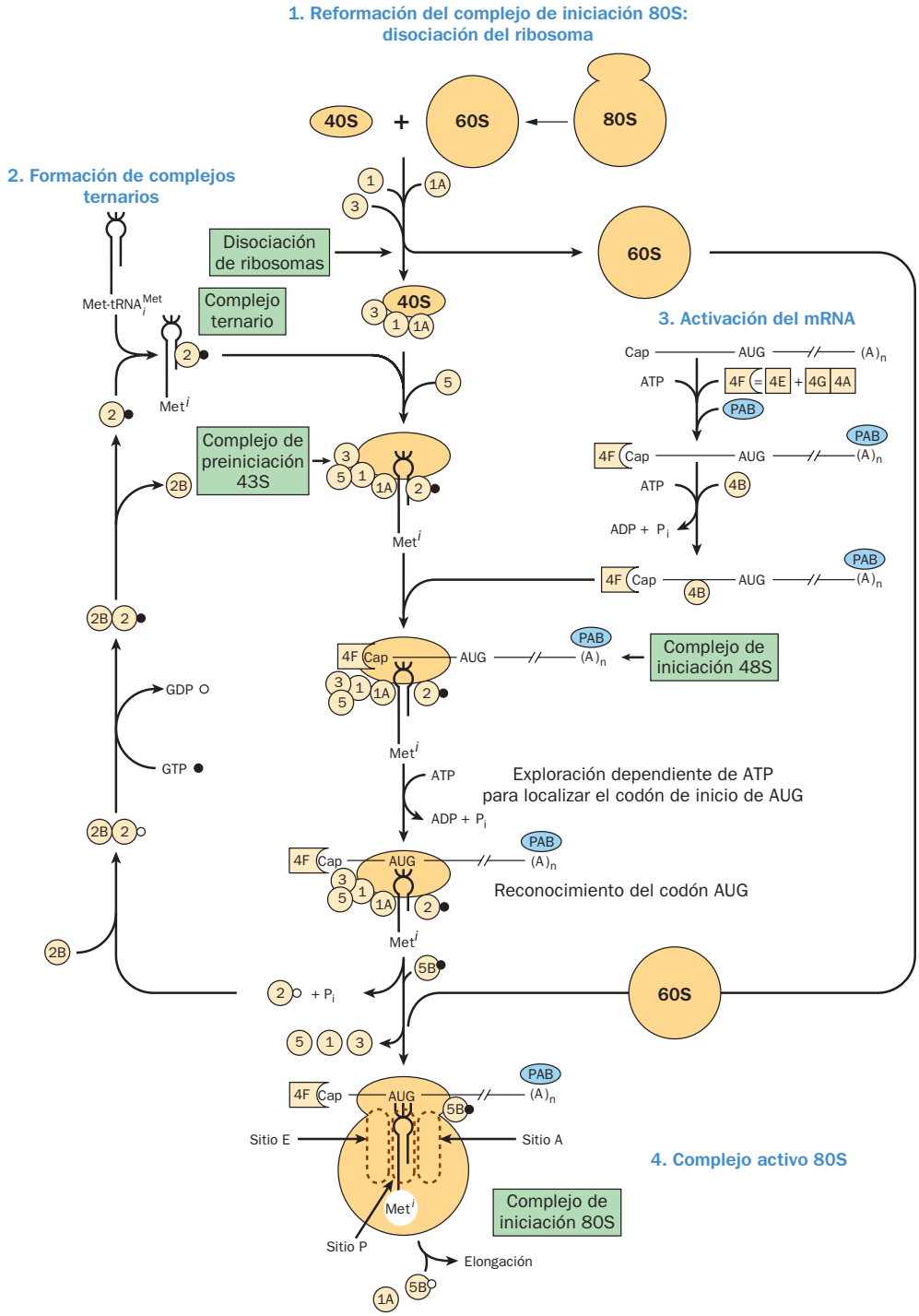


FIGURA 37-6 **Representación esquemática de la fase de iniciación de la síntesis de proteínas en un mRNA eucariota.** Los mRNA eucariotas contienen una cubierta 5'^{7me}G (cubierta) y un 3' poli (A) terminal [(A)$_n$] como se muestra. La formación del complejo de preiniciación de la traducción avanza en varios pasos: 1) Disociación del complejo 80S a las subunidades 40S y 60S, un proceso facilitado por la unión de los factores eIF1, eIF1A y eIF3 a la subunidad ribosómica 40S (arriba). 2) Formación del complejo de preiniciación 43S, un complejo ternario que consta de met-tRNAi y GTP unidos al factor de iniciación eIF-2 (eIF-2-GTP, izquierda). Este complejo está ligado por el factor de iniciación eIF5 que forma el complejo de preiniciación 43S completo. 3) Activación del mRNA 'cubierto' y formación del complejo de iniciación 48S. El mRNA se une a través de su cubierta 5' por eIF4F (compuesto de los factores eIF4E, eIF4G y eIF4A) y una cola 3' Poly (A) por la proteína de unión a Poly A que forma el complejo de iniciación 48S. La exploración de mRNA 5' a 3' dependiente de la hidrólisis de ATP permite la localización del codón de iniciación AUG, que se une luego por met-tRNAi. 4) Tras la adición de eI5B unida a GTP y la disociación de eIF1, eIF2-GDP, eIF3 y eIF5, se produce la formación del complejo de iniciación 80S cuando una subunidad 60S ribosómica reciclada se une al complejo 48S. Esta reacción posiciona al iniciador met-tRNAi dentro del sitio P de la formación activa del complejo de inicio 80S y provoca la disociación de eIF1A y eIF5B unido a GDP (véase texto para más detalles). Ahora este complejo es competente para iniciar la traducción. (GTP,•; GDP,°) Los diversos factores de iniciación aparecen en forma abreviada como círculos o cuadrados, por ejemplo, eIF-3, (③), eIF-4F, (4F), ([4F]). 4•F es un complejo que consta de 4E y 4A vinculados a 4G (véase figura 37-7). Tenga en cuenta que la estructura "circular" de mRNA ilustrada en la figura 37-7 se cree que es la forma real del mRNA en la cual realmente ocurren los pasos 1 a 4.

Por lo general, este es el AUG más 5', pero el codón de iniciación preciso está determinado por las llamadas **secuencias de consenso de Kozak** que rodean el codón de iniciación de AUG:

```
   −3   +1  +4
    |    |
GCCPuGCCAUGG
```

Lo que se prefiere más es la presencia de una purina (Pu) en las posiciones –3 y una G en la posición +4.

Papel de la cola Poli (A) en la iniciación

Los experimentos bioquímicos y genéticos han revelado que la cola 3'poli (A) y la **proteína de unión poli (A)** [**PAB**, *poly (A) binding protein*] son ambas necesarias para el inicio eficiente de la síntesis de proteínas. Otros estudios demostraron que la cola de poli (A) estimula el reclutamiento de la subunidad ribosómica 40S al mRNA a través de un conjunto complejo de interacciones. La PAB (**figura 37-7**) unida a la cola poli (A), interactúa con las subunidades eIF-4G y 4E del eIF-4F unido a la cubierta para formar una estructura circular que ayuda a dirigir la subunidad ribosómica 40S al extremo 5' del mRNA y tal vez estabiliza también los mRNA de la degradación exonucleolítica. Esto ayuda a explicar cómo las estructuras de la cubierta y de la cola poli (A) tienen un efecto sinérgico en la síntesis de proteínas. En efecto, las interacciones proteína-proteína diferenciales entre represores de traducción de mRNA generales y específicos y eIF-4E dan como resultado el control de la traducción dependiente de la cubierta de m^7G (**figura 37-8**).

Formación del complejo de iniciación 80S

La unión de la subunidad ribosómica 60S al complejo de iniciación 48S implica la hidrólisis de GTP unido a eIF-2 por **eIF-5**. Esta reacción da como resultado la liberación de los factores de iniciación unidos al complejo de iniciación 48S (luego estos factores se reciclan) y la asociación rápida de las subunidades 40S y 60S para formar el ribosoma 80S. En este punto, el met-$tRNA^i$ está en el sitio P del ribosoma, listo para que comience el ciclo de elongación.

La regulación de eIF-4E controla la velocidad de iniciación

El complejo 4F es muy importante para controlar la velocidad de traducción de proteínas. Como se describió antes, 4F es un complejo que está compuesto de 4E, el cual se une a la estructura de la cubierta de m^7G en el extremo 5' del mRNA, y 4G, que sirve como una

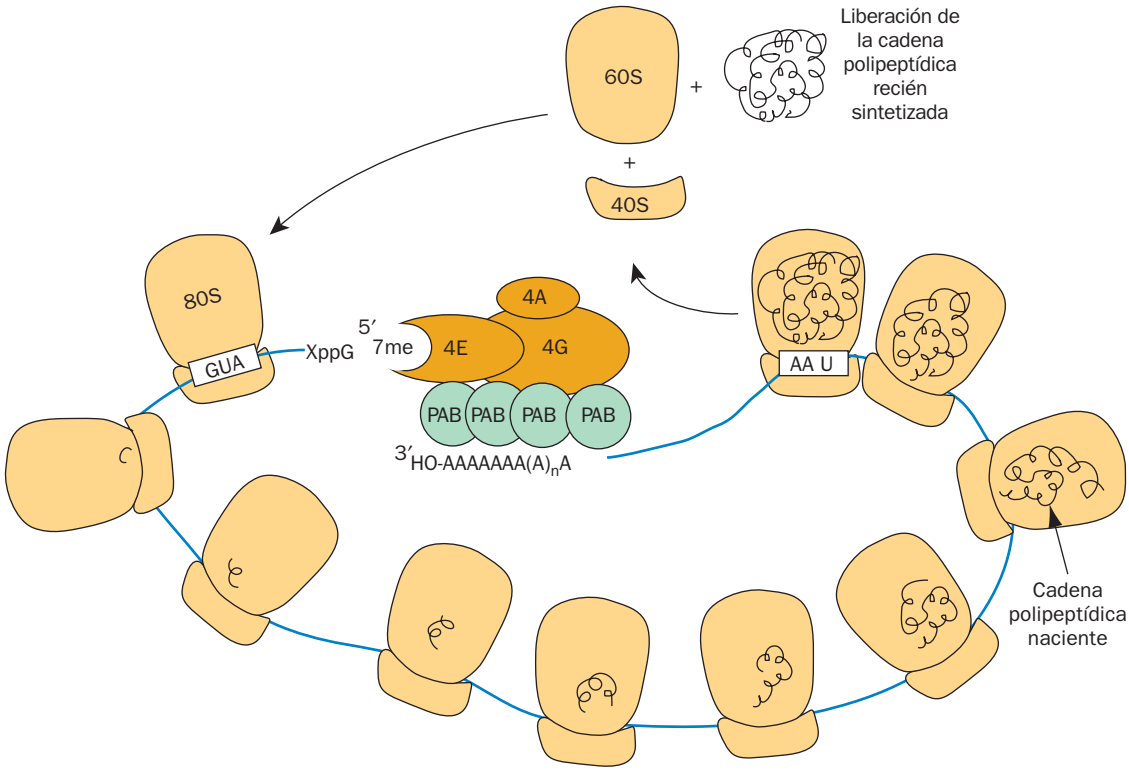


FIGURA 37-7 Esquema que ilustra la circularización del mRNA a través de interacciones proteína-proteína entre eIF4F unido a la cubierta de ^{7me}G y la proteína de unión poli (A) unida a la cola poli (A). El eIF4F, compuesto por las subunidades eIF4A, 4E y 4G se une al mRNA 5'-^{7me}G "cubierta" (7meGpppX-) corriente arriba del codón de iniciación de la traducción (AUG) con alta afinidad. La subunidad eIF4G del complejo también se une a la proteína de unión poli (A) (PAB) con alta afinidad. Como la PAB se une estrechamente a la cola de 3'-poli (A) mRNA (5'- $(X)_nA(A)_nAAAAAAA_{OH}$ 3'), se produce la circularización. Se muestran múltiples ribosomas 80S que están en el proceso de traducción del mRNA circularizado en proteína (floriturras negras), formando un polisoma. Al encontrar un codón de terminación (aquí UAA), ocurre la terminación de la traducción que conduce a la liberación de la proteína recientemente traducida y a la disociación del ribosoma 80S en las subunidades 60S, 40S. Las subunidades ribosomales disociadas pueden reciclarse a través de otra ronda de traducción (véanse figuras 37-6 y 37-10).

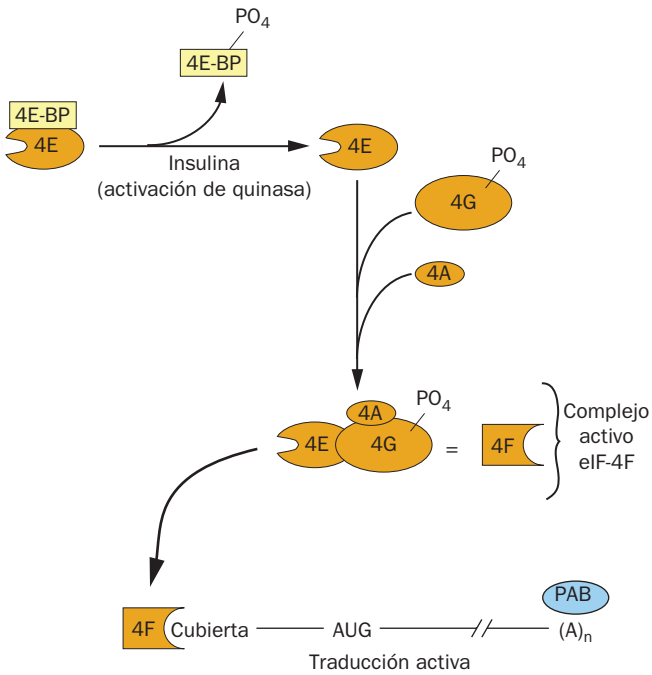


FIGURA 37-8 Activación de eIF-4E por insulina y formación del complejo eIF-4F de unión a la cubierta. El complejo 4F-cubierta mRNA se representa como en las figuras 37-6 y 37-7. El complejo 4F consta de eIF-4E (4E), eIF-4A y eIF-4G. 4E es inactivo cuando está unido por una familia de proteínas de unión (4E-BP, *4E binding proteins*). Los polipéptidos de insulina y de crecimiento mitogénico, o factores de crecimiento (p. ej., IGF-1, PDGF, interleucina-2 y angiotensina II) activan las rutas de señalización PI3 quinasa/AKT quinasa, que activan la mTOR quinasa y dan como resultado la fosforilación de 4E-BP (véase figura 42-8). El 4E-BP fosforilado se disocia de 4E, y este último puede formar el complejo 4F y unirse a la cubierta de mRNA. Estos polipéptidos de crecimiento también provocan la fosforilación de 4G en sí misma por las rutas mTOR y MAP quinasa (véase capítulo 42). El 4F fosforilado se une mucho más ávidamente a la cubierta que el 4F no fosforilado, el cual estimula la formación del complejo de iniciación 48S y, por tanto, la traducción.

proteína de andamiaje. Además de unirse a 4E, 4G se une a eIF-3, que une el complejo a la subunidad ribosómica 40S. También se une a 4A y 4B, el complejo ATPasa-helicasa que ayuda a desenrollar el RNA (figura 37-8).

El 4E es responsable del reconocimiento de la estructura de la cubierta del mRNA, un paso limitante de la velocidad en la traducción. Este proceso está regulado **aún más** por la fosforilación (figura 37-8). La insulina y los factores de crecimiento mitogénicos tienen como resultado la fosforilación de 4E en Ser209 (o Thr210). El 4E fosforilado se une a la cubierta mucho más ávidamente que la forma no fosforilada, mejorando así la velocidad de iniciación. Los componentes de las rutas de señalización MAP quinasa, PI3K, mTOR, RAS y S6 quinasa (véase figura 42-8) pueden todos, bajo condiciones apropiadas, estar implicados en estas reacciones de fosforilación reguladoras.

La actividad de 4E se modula de una segunda manera, y esto también implica la fosforilación; un conjunto de proteínas se unen e inactivan 4E. Estas proteínas incluyen **4E-BP1** (**BP1**, también conocida como **PHAS-1**) y las proteínas estrechamente relacionadas **4E-BP2** y **4E-BP3**. La BP1 se une con alta afinidad a 4E. La asociación de 4E-BP1 impide que 4E se una a 4G (para formar 4F).

Dado que esta interacción es esencial para la unión de 4F a la subunidad 40S ribosómica y para colocarla de forma correcta en el mRNA cubierto, BP-1 inhibe de modo eficaz el inicio de la traducción. La insulina y otros factores de crecimiento tienen como resultado la fosforilación de BP-1 en siete sitios únicos. La fosforilación de BP-1 da como resultado su disociación de 4E y no puede volver a enlazarse hasta que los sitios críticos se defosforilen. Estos efectos sobre la activación de 4E explican en parte cómo la insulina causa un marcado aumento de postranscripción de la síntesis de proteínas en el hígado, el tejido adiposo y el tejido muscular.

La elongación es también un proceso facilitado por factores múltiples y accesorios

La elongación es un proceso cíclico en el ribosoma en el que se agrega un aminoácido a la vez a la cadena del péptido naciente (**figura 37-9**). La secuencia peptídica se determina por el orden de los codones en el mRNA. La elongación implica varios pasos catalizados por proteínas llamados **factores de elongación** (**Ef,** *elongation factors*). Estos pasos son 1) unión de aminoacil-tRNA al sitio A, 2) formación de un enlace peptídico, 3) translocación del ribosoma en el mRNA, y 4) expulsión del tRNA desacilado de los sitios P y E.

Unión de aminoacil-tRNA al sitio A

En el ribosoma completo 80S formado durante el proceso de iniciación, tanto el **sitio A (sitio aminoacil o sitio aceptor)** como el **sitio E (sitio de salida del tRNA desacilado)** están libres (figura 37-6). La unión del aminoacil-tRNA apropiado en el sitio A requiere el reconocimiento adecuado del codón. El **factor de elongación 1A (EF1A)** forma un complejo ternario con GTP y el aminoacil-tRNA entrante (figura 37-9). Este complejo permite luego que el aminoacil-tRNA correcto ingrese al sitio A con la liberación de EF1A-GDP y fosfato. La hidrólisis de GTP está catalizada por un sitio activo en el ribosoma; la hidrólisis provoca un cambio conformacional en el ribosoma aumentando concomitantemente la afinidad por el tRNA. Como se muestra en la figura 37-9, EF1A-GDP se recicla luego a EF1A-GTP con la ayuda de otros factores proteicos solubles y GTP.

Formación de enlaces peptídicos

El grupo alfaamino del nuevo aminoacil-tRNA en el sitio A lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo esterificado del **peptidil-tRNA** que ocupa el **sitio P (sitio de peptidilo o polipéptido)**. Al principio, este sitio está ocupado por el iniciador met-tRNA$_i$. Esta reacción es catalizada por una **peptidil transferasa**, un componente del RNA 28S de la subunidad ribosómica 60S. Este es otro ejemplo de la actividad de las ribozimas e indica un papel directo importante, y previamente insospechado, para el RNA en la síntesis de proteínas (cuadro 37-3). Debido a que el aminoácido en el aminoacil-tRNA ya está "activado", no se requiere una fuente de energía adicional para esta reacción, la cual da como resultado la unión de la cadena peptídica en crecimiento al tRNA en el sitio A.

Translocación

El tRNA ahora desacilado está unido por su anticodón al sitio P en un extremo y por su cola 3'CCA abierta al sitio E en la subunidad ribosómica grande (parte del medio de la figura 37-9). En este pun-

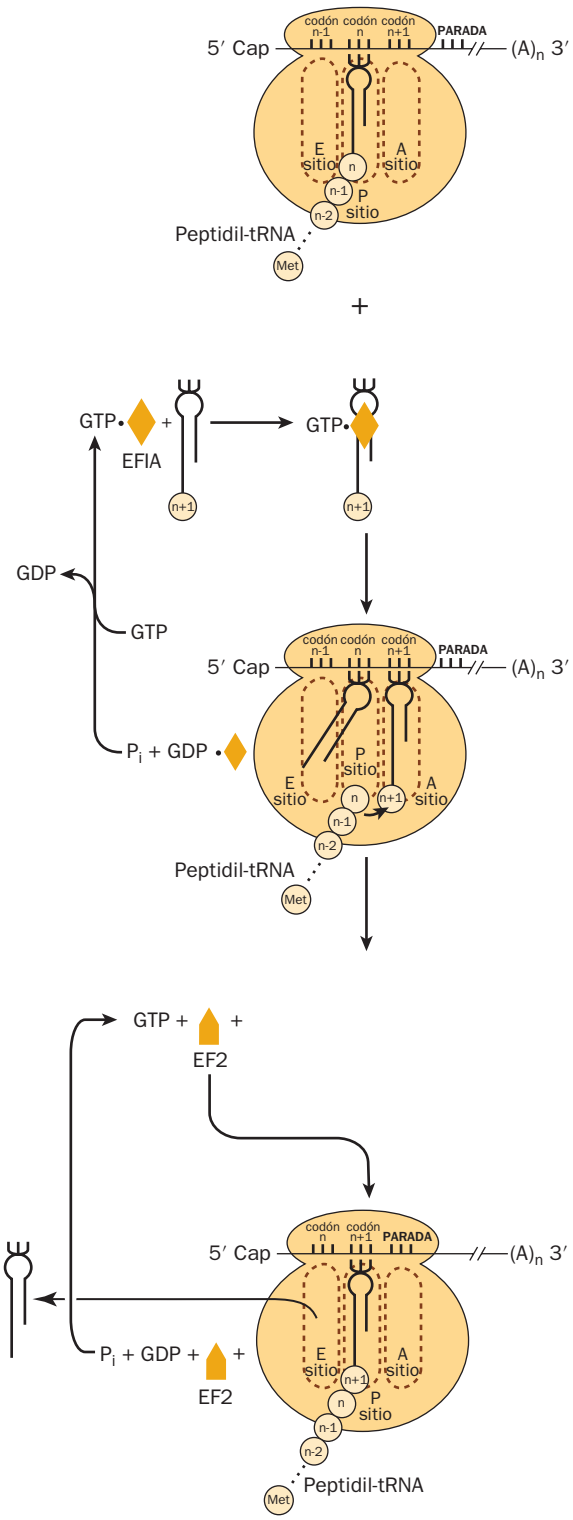


FIGURA 37-9 Representación diagramática del proceso de elongación peptídico de la síntesis de proteínas. Los pequeños círculos denominados n - 1, n, n + 1, etc., representan los residuos de aminoácidos de la molécula de proteína recién formada (en la orientación N-terminal a *C*-terminal) y los codones correspondientes en el mRNA. EFIA y EF2 representan los factores de elongación 1 y 2, respectivamente. El peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y los sitios de salida en el ribosoma están representados por el sitio P, el sitio A y el sitio E, respectivamente.

CUADRO 37-3 Evidencia de que el rRNA es una peptidil transferasa

- Los ribosomas pueden formar enlaces peptídicos (aunque de modo ineficaz) incluso cuando las proteínas se eliminan o inactivan.
- Ciertas partes de la secuencia de rRNA están altamente conservadas en todas las especies.
- Estas regiones conservadas están en la superficie de la molécula de RNA.
- El RNA puede ser catalítico en muchas otras reacciones químicas.
- Las mutaciones que producen resistencia a los antibióticos al nivel de la síntesis de proteínas se encuentran con mayor frecuencia en el rRNA que en los componentes proteicos del ribosoma.
- La estructura cristalina de los rayos X de la subunidad grande unida al tRNA sugiere un mecanismo detallado.

to, el **factor de elongación 2 (EF2)** se une y desplaza el peptidil tRNA del sitio A al sitio P. A su vez, el tRNA desacilado está en el sitio E, desde donde sale del ribosoma. El complejo EF2-GTP se hidroliza a EF2- PIB, moviendo eficazmente el mRNA hacia adelante por un codón y dejando el sitio A abierto para ser ocupado por otro complejo ternario de aminoácido tRNA-EF1A-GTP y otro ciclo de elongación.

La carga de la molécula de tRNA con el resto aminoacilo requiere la hidrólisis de un ATP a un AMP, equivalente a la hidrólisis de dos ATP a dos ADP y fosfatos. La entrada del aminoacil-tRNA en el sitio A da como resultado la hidrólisis de un GTP a GDP. La translocación del peptidil-tRNA recién formado en el sitio A dentro del sitio P por EF2 da como resultado una hidrólisis de GTP a GDP y fosfato. Por tanto, los requisitos de energía para la formación de un enlace peptídico incluyen el equivalente de la hidrólisis de dos moléculas de ATP a ADP y de dos moléculas de GTP a GDP, o la hidrólisis de cuatro enlaces de fosfato de alta energía. Un ribosoma eucariota puede incorporar hasta seis aminoácidos por segundo; los ribosomas procariotas incorporan hasta 18 por segundo. De este modo, el proceso que requiere energía de la **síntesis** peptídica ocurre con gran velocidad y precisión hasta que se alcanza un codón de terminación.

La terminación se produce cuando se reconoce un codón de parada

En comparación con la iniciación y la elongación, la terminación es un proceso relativamente simple (**figura 37-10**). Después de múltiples ciclos de elongación que culminan en la polimerización de los aminoácidos específicos en una molécula de proteína, el codón de terminación o parada del mRNA (UAA, UAG, UGA) aparece en el sitio A. Normalmente, no hay un tRNA con un anticodón capaz de reconocer tal señal de terminación. El **factor de liberación 1** (**RF1,** *releasing factor 1*) reconoce que un codón de parada reside en el sitio A (figura 37-10). El RF1 está unido por un complejo que consta del **factor de liberación 3 (RF3)** con GTP unido. Este complejo, con la peptidil transferasa, estimula la hidrólisis del enlace entre el péptido y el tRNA que ocupa el sitio P. Por tanto, se agrega una molécula de agua en lugar de un aminoácido. Esta hidrólisis libera la proteína y el tRNA del sitio P. Tras la hidrólisis y la liberación, el ribosoma 80S se disocia en sus subunidades 40S y 60S, que luego

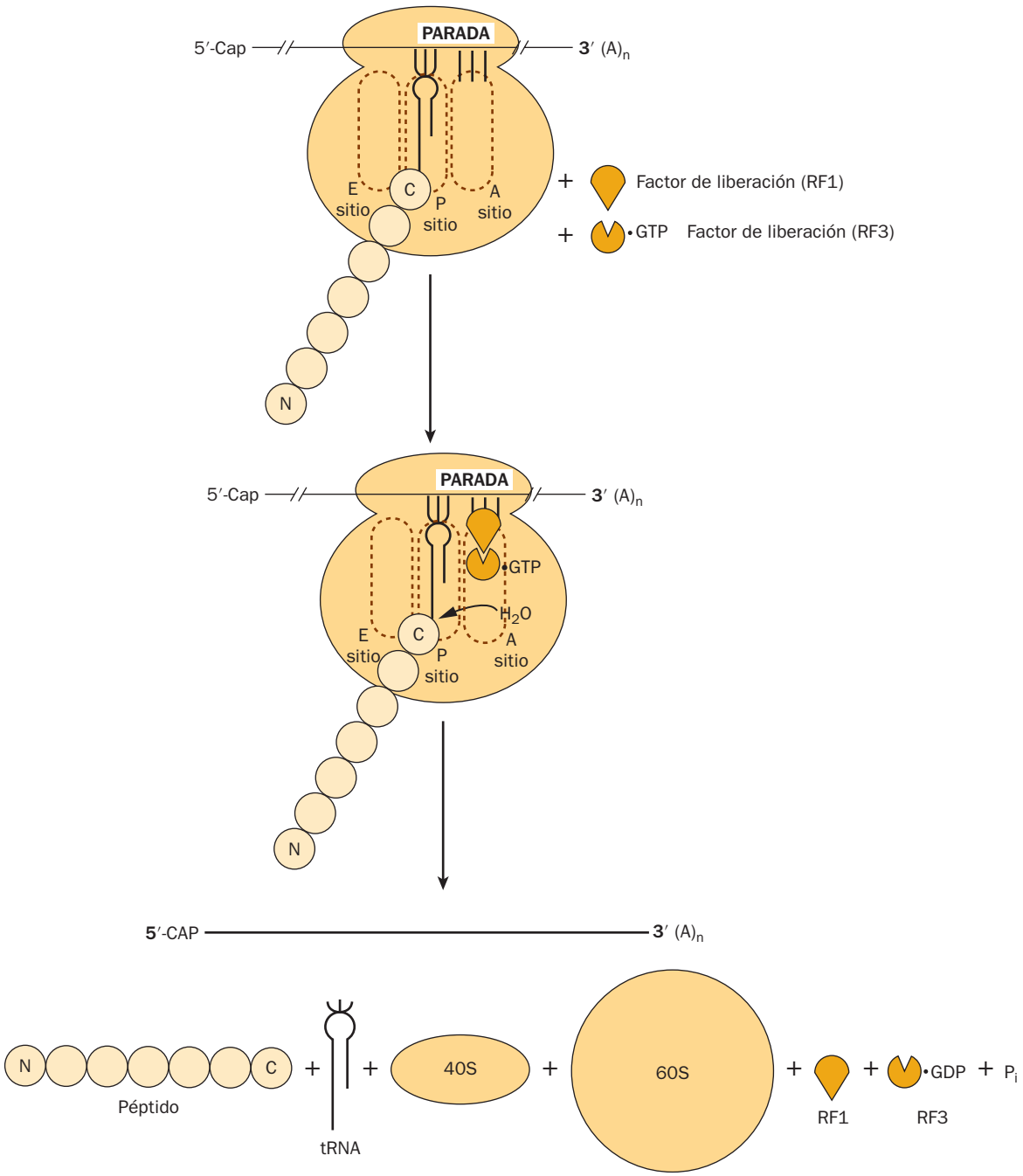


FIGURA 37-10 **Representación esquemática del proceso de terminación de la síntesis de proteínas.** El peptidil-tRNA ribosómico 60S, el aminoacil-tRNA y los sitios de salida se indican como sitio P, sitio A y sitio E, respectivamente. El codón de terminación (parada) se indica mediante las tres barras verticales y PARADA. El factor de liberación RF1 se une al codón de parada en el sitio A. El factor de liberación RF3, que une a GTP, se une a RF1. La hidrólisis del complejo peptidil-tRNA se muestra por la entrada de agua (H_2O); flecha. N y C indican los aminoácidos de los terminales amino y carboxilo de la cadena polipeptídica naciente, respectivamente, e ilustran la polaridad de la síntesis de proteínas. La terminación da como resultado la liberación del mRNA, la proteína recién sintetizada (extremos N y C, N, C), tRNA libre, subunidades 40S y 60S, así como RF1, GDP unido a RF3 y P_i inorgánico, como se muestra al final.

se reciclan (figura 37-7). Por tanto, los factores de liberación son proteínas que hidrolizan el enlace peptidil-tRNA cuando un codón de parada ocupa el sitio A. El mRNA se libera luego del ribosoma, que se disocia en sus subunidades 40S y 60S componentes, y se puede repetir otro ciclo.

Los polisomas son conjuntos de ribosomas

Muchos ribosomas pueden traducir la misma molécula de mRNA de modo simultáneo. Debido a su tamaño relativamente grande, las partículas de ribosoma no pueden unirse a un mRNA a menos

de 35 nucleótidos de distancia. Múltiples ribosomas en la misma molécula de mRNA forman un **polirribosoma**, o **"polisoma"** (figura 37-7). En un sistema no restringido, el número de ribosomas unidos a un mRNA (y, por tanto, el tamaño de los polirribosomas) se correlaciona positivamente con la longitud de la molécula de mRNA.

Los polirribosomas que sintetizan activamente proteínas pueden existir como partículas libres en el citoplasma celular o pueden unirse a láminas de estructuras citoplásmicas membranosas denominadas **ER**. La unión de los polirribosomas en forma de partícula al ER es responsable de su apariencia "rugosa" como se observa mediante microscopía electrónica. Las proteínas sintetizadas por los polirribosomas unidos se extruden en el espacio cisternal entre las láminas de ER rugoso y se exportan desde allí. El aparato de Golgi empaqueta algunos de los productos proteicos del ER rugoso para su eventual exportación (véanse figuras 49-2, 49-6). Las partículas polirribosomales libres en el citosol son responsables de la síntesis de las proteínas necesarias para las funciones intracelulares.

Los mRNA no traducibles pueden formar partículas de ribonucleoproteína que se acumulan en organelos citoplásmicos denominados cuerpos P

Los mRNA, unidos por proteínas de empaquetamiento específicas y exportadas desde el núcleo como **partículas de ribonucleoproteínas** (**mRNP,** *ribonucleoproteins particles*) a veces no se asocian inmediatamente con los ribosomas para su traducción. En cambio, los mRNA específicos pueden asociarse con los constituyentes proteicos que forman los **cuerpos P**, pequeños compartimientos densos que incorporan mRNA como mRNP (**figura 37-11**). Estos organelos citoplásmicos están relacionados con pequeños gránulos similares que contienen mRNA, los cuales se encuentran en las neuronas y en ciertas células maternas. Los cuerpos P son sitios del metabolismo del mRNA. Se ha indicado que más de 35 proteínas distintas residen exclusiva o extensamente dentro de los cuerpos P. Estas proteínas varían desde enzimas de decapado de mRNA, helicasas de RNA y exonucleasas de RNA (5'-3' y 3'-5') a componentes implicados en la función del miRNA y control de calidad del mRNA. Sin embargo, la incorporación de un mRNP no es una "sentencia de muerte" de mRNA inequívoca. De hecho, aunque los mecanismos aún no se comprenden completamente, ciertos mRNA parecen almacenarse de modo temporal en cuerpos P y luego se recuperan y se utilizan para la traducción de proteínas. Esto sugiere que existe un equilibrio donde las funciones citoplásmicas del mRNA (traducción y degradación) están controladas por la interacción dinámica del mRNA con polisomas y cuerpos P.

La maquinaria de la síntesis de proteínas puede responder a las amenazas ambientales

La **ferritina**, una proteína de unión al hierro, impide que el hierro ionizado (Fe^{2+}) alcance niveles tóxicos dentro de las células. El hierro elemental estimula la síntesis de ferritina al provocar la liberación de una proteína citoplásmica que se une a una región específica en la región 5' no traducida del mRNA de ferritina. La alteración de esta interacción proteína-mRNA activa el mRNA de la ferritina y da como resultado su traducción. Este mecanismo proporciona un control rápido de la síntesis de una proteína que secuestra Fe^{2+}, una molécula potencialmente tóxica (véanse figuras 52-7 y 52-8). Del mismo modo, el estrés ambiental y la inanición inhiben las funciones positivas de mTOR (figura 37-8; figura 42-8) sobre la promoción de la activación de la formación de los complejos eIF-4F y 48S.

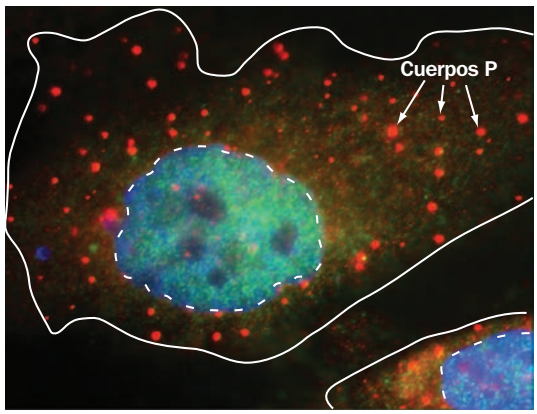


FIGURA 37-11 El cuerpo P es un organelo citoplásmico involucrado en el metabolismo del mRNA. Se muestra una fotomicrografía de dos células de mamífero en la que se ha visualizado un único componente de proteína distinto del cuerpo P usando el anticuerpo específico afín, señalado de modo fluorescente. Los cuerpos P aparecen como pequeños círculos rojos de diferentes tamaños en todo el citoplasma. Las membranas plasmáticas celulares están indicadas por una línea blanca sólida, los núcleos por una línea discontinua. Los núcleos se tiñeron de nuevo usando un colorante fluorescente con diferentes espectros de fluorescencia de excitación/emisión del anticuerpo marcado usado para identificar los cuerpos P; la tinción nuclear se intercala entre los pares de bases de DNA y aparece como azul/verde. Modificado de http://www.mcb.arizona.edu/parker/WHAT/what.htm. (Utilizado con permiso del Dr Roy Parker).

Muchos virus adoptan la maquinaria de síntesis de proteínas de la célula huésped

La maquinaria de síntesis de proteínas también puede modificarse de maneras nocivas. Los virus se replican utilizando procesos de células hospedadoras, incluyendo los que participan en la síntesis de proteínas. Algunos mRNA virales se traducen de manera mucho más eficiente que los de la célula huésped (p. ej., virus de la encefalomiocarditis). Otros, como el reovirus y el virus de la estomatitis vesicular, se replican de manera eficiente y, por tanto, sus mRNA abundantes tienen una ventaja competitiva sobre los mRNA de la célula huésped por factores de traducción limitados. Otros virus inhiben la síntesis de proteína de la célula huésped al evitar la asociación del mRNA con el ribosoma 40S.

El poliovirus y otros picornavirus obtienen una ventaja selectiva al alterar la función del complejo 4F. Los mRNA de estos virus no tienen una estructura de cubierta para dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S (véase más arriba). En cambio, la subunidad ribosómica 40S entra en contacto con un **sitio interno de entrada ribosomal** (**IRES,** *internal ribosomal entry site*) en una reacción que requiere 4G pero no 4E. El virus obtiene una ventaja selectiva al tener una proteasa que ataca a 4G y elimina el sitio de unión 4E del terminal amino. Ahora no se puede formar el complejo (4F) 4E-4G, por lo que la subunidad ribosómica 40S no puede dirigirse a los

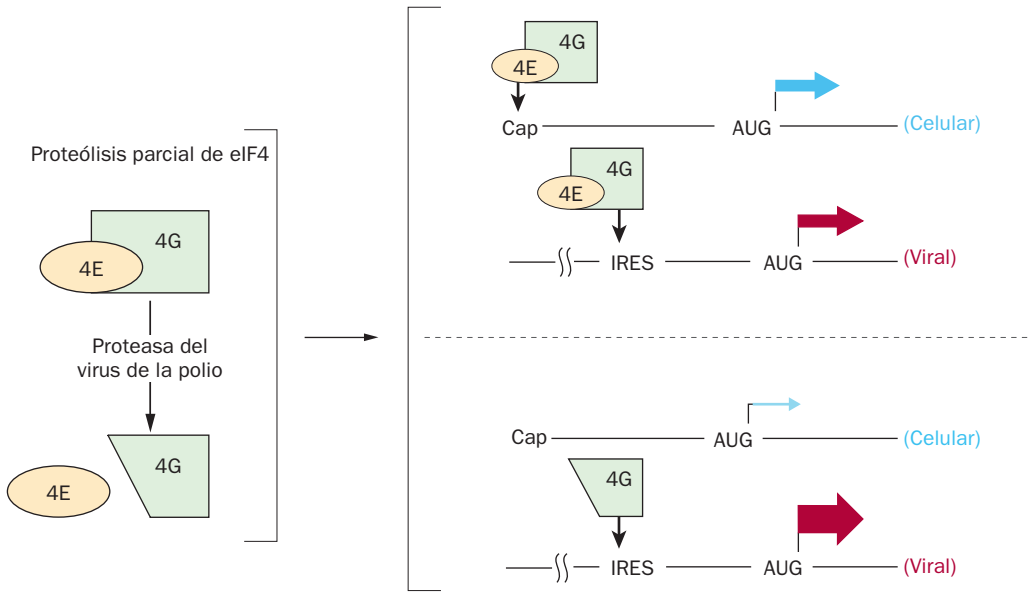


FIGURA 37-12 Los picornavirus alteran el complejo 4F. El complejo (4F) 4E-4G dirige la subunidad ribosómica 40S al mRNA típico cubierto (véase texto). Sin embargo, el 4G sólo es suficiente para dirigir la subunidad 40S al sitio interno de entrada ribosomal (IRES) de ciertos mRNA virales. Para obtener una ventaja selectiva, algunos virus (p. ej., poliovirus) expresan una proteasa que escinde el sitio de unión 4E del extremo aminoterminal de 4G. Este 4G truncado puede dirigir la subunidad ribosómica 40S a los mRNA que tienen un IRES pero no a los que tienen una cubierta (es decir, los mRNA de la célula huésped). El ancho de las flechas indica la velocidad de inicio de la traducción desde el codón AUG en cada ejemplo. Otros virus utilizan procesos distintos para efectuar la iniciación selectiva de la traducción en sus mRNA virales afines mediante elementos IRES.

mRNA huéspedes cubiertos, aboliendo la síntesis de proteína de la célula huésped. El fragmento 4G puede dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S a los mRNAs que contienen IRES, por lo que la traducción del mRNA viral es muy eficaz (**figura 37-12**). Estos virus también estimulan la desfosforilación de BP1 (PHAS-1), disminuyendo así la traducción dependiente de la cubierta (4E) (figura 37-8).

EL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIÓN AFECTA LA ACTIVIDAD DE MUCHAS PROTEÍNAS

Algunos virus de animales, especialmente el HIV, el poliovirus y el virus de hepatitis, sintetizan proteínas policistrónicas largas a partir de una molécula larga de mRNA. Las moléculas de proteína viral traducidas a partir de estos mRNA largos se escinden luego en sitios definidos para proporcionar las diversas proteínas virales específicas requeridas para la función viral. En las células de animales, muchas proteínas celulares se sintetizan a partir de la plantilla de mRNA como una molécula precursora, que luego debe modificarse para lograr la proteína activa. El prototipo es insulina, una pequeña proteína que tiene dos cadenas polipeptídicas con puentes disulfuro intercadena e intracadena. La molécula se sintetiza como un precursor de cadena simple, o **prohormona**, que se pliega para permitir la formación de puentes disulfuro específicos. Una proteasa específica corta luego el segmento que conecta las dos cadenas que forman la molécula de insulina funcional (véase figura 41-12).

Muchos otros péptidos se sintetizan como proproteínas precursoras que requieren modificaciones antes de alcanzar la actividad biológica. Muchas de las modificaciones de postraducción implican la eliminación de residuos de aminoácidos aminoterminales por aminopeptidasas específicas (véase figura 41-14). Por el contrario, el colágeno, una proteína abundante en los espacios extracelulares de los organismos eucariotas superiores, se sintetiza como procolágeno. Tres moléculas de polipéptido de procolágeno, con frecuencia no idénticas en secuencia, se alinean de una manera particular que depende de la existencia de péptidos aminoterminales específicos (véase figura 5-11). Las enzimas específicas llevan a cabo hidroxilaciones y oxidaciones de residuos de aminoácidos específicos dentro de las moléculas de procolágeno para proporcionar enlaces cruzados para una mayor estabilidad. Los péptidos aminoterminales se escinden de la molécula para formar el producto final: una molécula de colágeno fuerte e insoluble. Se producen muchas otras modificaciones de postraducción de las proteínas. La modificación covalente por acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitinación y glucosilación es común, por ejemplo (véase capítulo 5, cuadro 35-1).

MUCHOS ANTIBIÓTICOS TRABAJAN INHIBIENDO SELECTIVAMENTE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS EN LAS BACTERIAS

Los ribosomas en bacterias y en mitocondrias de células eucariotas superiores difieren del ribosoma de mamíferos descrito en el capítulo 34. El ribosoma bacteriano es más pequeño (70S frente a 80S)

y tiene un complemento diferente, algo más simple, de moléculas de RNA y proteínas. Esta diferencia puede explotarse con fines clínicos porque muchos antibióticos efectivos interactúan específicamente con las proteínas y los RNA de los ribosomas procariotas y, por tanto, sólo inhiben la síntesis de proteínas bacterianas. Esto da como resultado la detención del crecimiento o la muerte de la bacteria. Los miembros más útiles de esta clase de **antibióticos** (p. ej., **tetraciclinas**, **lincomicina**, **eritromicina** y **cloranfenicol**) no interactúan con los componentes de los ribosomas eucariotas y, por tanto, no son tóxicos para los organismos eucariotas. La tetraciclina evita la unión de aminoacil-tRNA al sitio bacteriano del ribosoma A. El cloranfenicol funciona uniéndose al 23S rRNA, el cual resulta interesante en vista del papel recientemente apreciado del rRNA en la formación del enlace peptídico a través de su actividad peptidil transferasa. Se debe mencionar que la estrecha similitud entre los ribosomas procariotas y mitocondriales puede conducir a complicaciones en el uso de algunos antibióticos.

Otros antibióticos inhiben la síntesis de proteínas en todos los ribosomas (**puromicina**) o sólo en los de células eucariotas (**cicloheximida**). La puromicina (**figura 37-13**) es un análogo estructural del tirosinil-tRNA. La puromicina se incorpora a través del sitio A en el ribosoma en la posición del terminal carboxilo de un péptido pero provoca la liberación prematura del polipéptido. La puromicina, como un análogo de tirosinil-tRNA, inhibe de forma eficaz la síntesis de proteínas tanto en procariotas como en eucariotas. La cicloheximida inhibe la peptidil transferasa en la subunidad ribosómica 60S en eucariotas, quizás al unirse a un componente de rRNA.

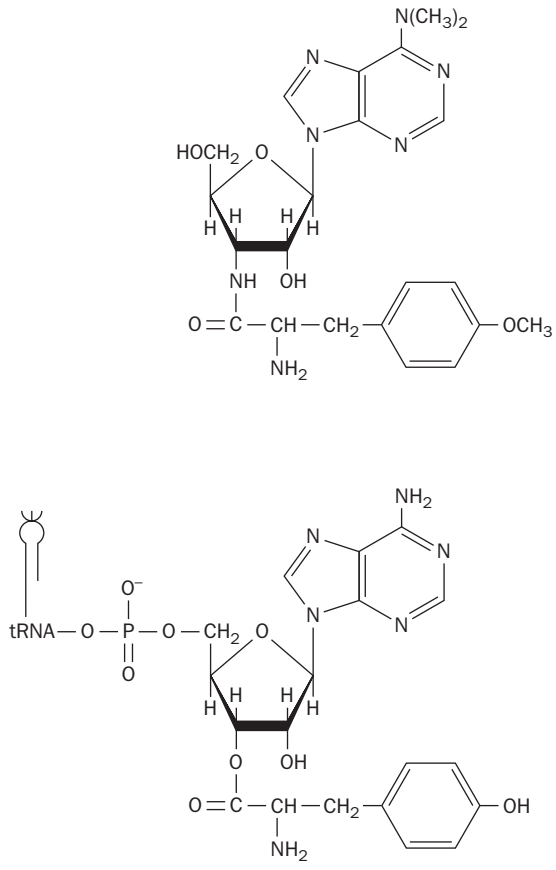


FIGURA 37-13 **Las estructuras comparativas del antibiótico puromicina (arriba) y la porción 3' terminal de tirosinil-tRNA (abajo).**

La **toxina diftérica**, una exotoxina de *Corynebacterium diphtheriae* infectada con un fago lisogénico específico, cataliza la ribosilación de EF-2 en el único aminoácido diftamida (una versión modificada p postraduccionalmente de histidina) en células de mamíferos. Esta modificación inactiva EF-2 y, por tanto, inhibe la síntesis de proteínas de mamíferos. Muchos animales (p. ej., ratones) son resistentes a la toxina diftérica. Esta resistencia se debe a la incapacidad de la toxina diftérica para atravesar la membrana celular más que a la insensibilidad del EF-2 de ratón a la ADP-ribosilación catalizada por la toxina diftérica mediante NAD.

La **ricina**, una molécula demasiado tóxica aislada del ricino, inactiva el RNA eucariota ribosómico 28S catalizando la escisión N-glucolítica o la eliminación de una sola adenina. Muchos de estos compuestos, puromicina y cicloheximida en particular, no son clínicamente útiles, pero han sido importantes para dilucidar el papel de la síntesis proteica en la regulación de los procesos metabólicos, en especial la inducción enzimática por hormonas.

RESUMEN

- El flujo de información genética, por lo general, sigue la secuencia DNA → RNA → proteína.
- El RNA ribosomal (rRNA), el RNA de transferencia (tRNA) y el RNA mensajero (mRNA) participan de forma directa en la síntesis de proteínas.
- La información en el mRNA es una serie continua de codones, cada uno de los cuales tiene tres nucleótidos de longitud.
- El mRNA se lee continuamente desde un codón de inicio (AUG) a uno de terminación (UAA, UAG, UGA).
- El marco de lectura abierto (ORF, *open reading frame*) del mRNA es la serie de codones contiguos (AUG a PARADA), cada uno especificando un cierto aminoácido, que determina la secuencia precisa de aminoácidos de la proteína.
- La síntesis de proteínas, como la síntesis de DNA y RNA, sigue la polaridad de 5' a 3' del mRNA y se puede dividir en tres procesos: iniciación, elongación y terminación.
- Las proteínas mutantes surgen cuando las sustituciones de una sola base dan como resultado codones que especifican un aminoácido diferente en una posición determinada, cuando un codón de parada da como resultado una proteína truncada, o cuando las adiciones o deleciones de bases alteran el marco de lectura, por lo que se leen codones diferentes.
- Una variedad de compuestos, incluyendo varios antibióticos, inhiben la síntesis de proteínas al afectar uno o más de los pasos implicados en la síntesis de proteínas.

REFERENCIAS

Crick FH, Barnett L, Brenner S, *et al*. General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 1961;192:1227-1232.

Frank, J. Whither ribosome structure and dynamics? (A perspective). *J Mol Biology* 2016;428:3565-3569.

Hinnebusch AG. The scanning mechanism of eukaryotic translation initiation. *Ann Rev Biochem* 2014;83:779-812.

Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N. Translational control by 5'-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. *Science* 2016;352: 1413-1416.

Jain S, Parker R. The discovery and analysis of P bodies. *Adv Exp Med Biol* 2013;768:23-43.

Kozak M. Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation. *J Biol Chem* 1991;266:1986-1970.

Liu CC, Schultz PG. Adding new chemistries to the genetic code. *Annu Rev Biochem* 2010;79:413-444.

Moore PB, Steitz TA. The roles of RNA in the synthesis of protein. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3:a003780.

Sonenberg N, Hinnebusch AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell* 2009;136:731-745.

Thompson SR. Tricks an IRES uses to enslave ribosomes. *Trends Microbiol* 2012;20:558-566.

Wang Q, Parrish AR, Wang L. Expanding the genetic code for biological studies. *Chem Biol* 2009;16:323-336.

Weatherall DJ. Thalassaemia: the long road from bedside to genome. *Nat Rev Genet* 2004;5:625-631.

Wilson DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nat Rev Microbiol* 2013;12:35-48.

CAPÍTULO

38

Regulación de la expresión génica

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar que los pasos implicados en los procesos vectoriales de expresión génica (como la modulación dirigida del número de copias génicas, la transposición de genes, la transcripción, el procesamiento y transporte de mRNA desde el núcleo, la traducción, la compartimentalización subcelular de proteínas, la modificación postraducción y la degradación) están sujetos a control regulatorio, tanto positivo como negativo. Los cambios en uno o varios de estos procesos pueden aumentar o disminuir la cantidad y/o actividad del producto del gen afín.
- Comprender que los factores de transcripción que se unen al DNA, las proteínas que se unen a secuencias de DNA específicas que están físicamente unidas a sus elementos objetivos estimuladores de transcripción pueden activar o reprimir la transcripción génica.
- Reconocer que los factores de transcripción de unión al DNA son a menudo proteínas modulares que están formadas por dominios estructural y funcionalmente distintos que pueden controlar directa o indirectamente la transcripción génica de RNA mensajero (mRNA), ya sea a través de contactos con la RNA polimerasa y sus cofactores o mediante interacciones con correguladores que modulan la estructura, composición y posición del nucleosoma a través de modificaciones covalentes de histona y/o desplazamiento del nucleosoma.
- Comprender que los eventos reguladores dirigidos por el nucleosoma generalmente aumentan o disminuyen la accesibilidad del DNA subyacente, como las secuencias intesificadoras o estimuladoras, aunque la modificación del nucleosoma también puede crear nuevos sitios de unión para otros correguladores.
- Describir cómo se combinan los procesos de transcripción génica, procesamiento de RNA y exportación nuclear de RNA.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos alteran la expresión de los genes en respuesta a señales o programas de desarrollo génico, desafíos ambientales o enfermedades, mediante la modulación de la cantidad, los patrones espaciales y/o temporales de la expresión génica. Los mecanismos que controlan la expresión génica se han estudiado en detalle y a menudo implican la modulación de la transcripción génica. El control de la transcripción es resultado en última instancia de los cambios en el modo de interacción de moléculas reguladoras específicas, generalmente proteínas, con diversas regiones de DNA en el gen regulado. Tales interacciones pueden tener un efecto positivo o negativo en la transcripción. El control de la transcripción puede dar como resultado la expresión génica específica de tejido y la regulación génica puede verse influida por una variedad de agentes fisiológicos, biológicos, ambientales y farmacológicos.

Además de los controles a nivel de transcripción, la expresión génica también puede ser modulada por amplificación génica, reordenamiento génico, modificaciones de postranscripción, estabilización de RNA, control de traducción, y modificación, compartimentación, estabilización o degradación de proteínas. Muchos de los mecanismos que controlan la expresión génica se utilizan para responder a señales de desarrollo, factores de crecimiento, hormo-

nas, agentes ambientales y fármacos terapéuticos. La desregulación de la expresión génica puede conducir a una enfermedad. Por tanto, una comprensión molecular de estos procesos conducirá al desarrollo de productos terapéuticos que pueden alterar los mecanismos fisiopatológicos, inhibir la función o detener el crecimiento de organismos patógenos.

LA EXPRESIÓN REGULADA DE LOS GENES ES NECESARIA PARA EL DESARROLLO, LA DIFERENCIACIÓN Y LA ADAPTACIÓN

La información genética presente en cada célula somática normal de un organismo pluricelular es prácticamente idéntica. Las excepciones genéticamente reproducibles e integradas se encuentran en las pocas células que tienen genes amplificados o reordenados para realizar funciones celulares especializadas. Por supuesto, en varios estados de enfermedad, la integridad cromosómica está alterada (es decir, cáncer, figura 56-11), algunas veces incluso a nivel cromosómico completo (p. ej., trisomía 21, que causa el síndrome de Down). La expresión de la información genética debe regularse durante la ontogenia y la diferenciación del organismo y sus componentes celulares. Además, para que el organismo se adapte a su entorno y para que conserve energía y nutrientes, la expresión de la información genética debe estar orientada a señales extrínsecas y responder sólo cuando sea necesario. A medida que han evolucionado los organismos, han aparecido mecanismos reguladores más sofisticados que proporcionan al organismo y sus células la capacidad de respuesta necesaria para sobrevivir en un entorno complejo. Las células de los mamíferos poseen aproximadamente 1 000 veces más información genética que la bacteria *Escherichia coli*. Gran parte de esta información genética adicional probablemente esté involucrada en la regulación de la expresión génica durante la diferenciación de tejidos y procesos biológicos en el organismo multicelular y en asegurar que este pueda responder a complejos desafíos ambientales.

En términos simples, sólo hay dos tipos de regulación genética: **regulación positiva** y **regulación negativa** (**cuadro 38-1**). Cuando la expresión de la información genética aumenta cuantitativamente por la presencia de un elemento regulador específico, se dice que la regulación es positiva; cuando la expresión de la información genética se ve disminuida por la presencia de un elemento regulador específico, se dice que la regulación es negativa. El elemento o molécula que media la regulación negativa se dice que es un **regulador negativo**, un **silenciador** o **represor**; el elemento que media la regulación positiva es un **regulador positivo**, un **intensificador** o **activador**. Sin embargo, un **doble negativo** tiene el efecto de actuar como positivo. Por tanto, un efector que inhibe la función de un regulador negativo parecerá provocar una regulación positiva. Muchos sistemas regulados que parecen ser inducidos, en realidad están **desreprimidos** a nivel molecular. (Véase capítulo 9 para una discusión adicional de estos términos).

CUADRO 38-1 Efectos de la regulación positiva y negativa en la expresión génica

	Nivel de expresión génica	
	Regulación negativa	**Regulación positiva**
Regulador presente	Reducida	Aumentada
Regulador ausente	Aumentada	Reducida

LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS EXHIBEN TRES TIPOS DE RESPUESTAS TEMPORALES A UNA SEÑAL REGULADORA

La **figura 38-1** representa la extensión o cantidad de expresión génica en tres tipos de respuestas temporales a una señal inductora. Una **respuesta de tipo A** se caracteriza por una extensión mayor de la expresión génica que depende de la presencia continua de la señal inductora. Cuando esta se elimina, la cantidad de expresión génica disminuye a su nivel basal, pero la cantidad aumenta repe-

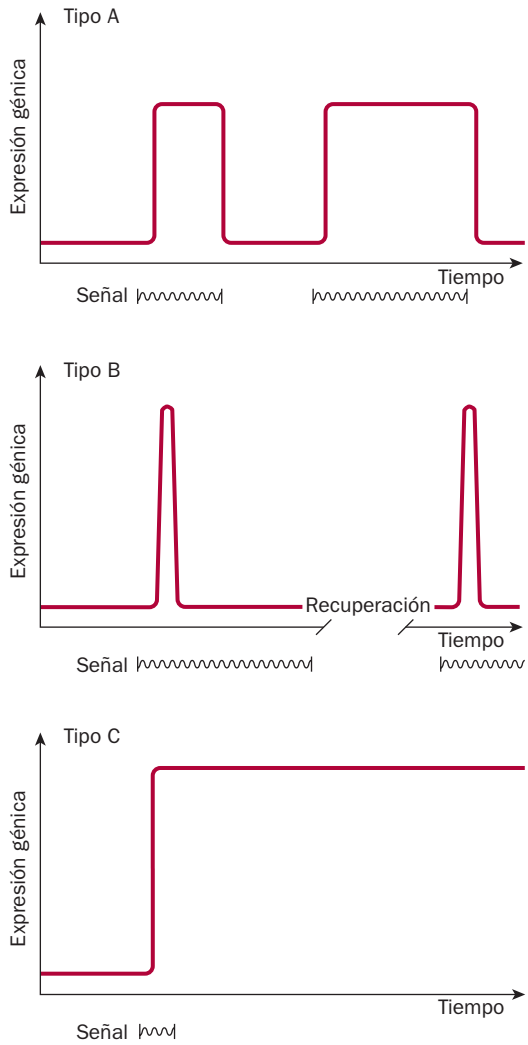


FIGURA 38-1 Representaciones gráficas de las respuestas del grado de expresión de un gen a señales reguladoras específicas en función del tiempo.

tidamente en respuesta a la reaparición de la señal específica. Este tipo de respuesta se observa comúnmente en procariotas en respuesta a cambios repentinos de la concentración intracelular de un nutriente. También se observa en muchos organismos superiores después de la exposición a inductores como hormonas, nutrientes o factores de crecimiento (véase capítulo 42).

Una **respuesta de tipo B** muestra una cantidad incrementada de expresión génica que es transitoria, incluso en la presencia continua de la señal reguladora. Después de que la señal reguladora ha terminado y la célula ha podido recuperarse, se puede observar una segunda respuesta transitoria a una señal reguladora posterior. Este fenómeno de recuperación de la respuesta a la desensibilización caracteriza la acción de muchos agentes farmacológicos, pero también es una característica de muchos procesos naturales. Este tipo de respuesta ocurre comúnmente durante el desarrollo de un organismo, cuando sólo se requiere la aparición transitoria del producto génico específico, aunque la señal persiste.

El patrón de **respuesta de tipo C** muestra, en respuesta a la señal reguladora, una mayor extensión de la expresión génica que persiste indefinidamente, incluso después de la terminación de la señal. Esta actúa como un disparador en ese patrón. Una vez que se inicia la expresión del gen en la célula, no puede terminarse, incluso en células hijas; por tanto, es una alteración irreversible y heredada. Este tipo de respuesta ocurre típicamente durante el desarrollo de la función diferenciada en un tejido u órgano.

Los organismos simples unicelulares y multicelulares sirven como modelos valiosos para el estudio de la expresión génica en células de mamíferos

El análisis de la regulación de la expresión génica en células procariotas ayudó a establecer el principio de que la información fluye desde el gen a un RNA mensajero y de ahí a una molécula de proteína específica. Estos estudios se hicieron con la ayuda de los análisis genéticos avanzados que podrían realizarse en organismos procariotas y eucariotas inferiores, como la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae* y la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, entre otros. En los últimos años, los principios establecidos en estas investigaciones, junto con una variedad de técnicas de biología molecular, han conducido a un progreso notable en el análisis de la regulación génica en organismos eucariotas superiores, incluyendo los mamíferos. En este capítulo, la discusión inicial se centrará en los sistemas procarióticos. Los impresionantes estudios genéticos no serán descritos, pero se discutirá la fisiología de la expresión génica. Sin embargo, casi todas las conclusiones sobre esta fisiología se han derivado de análisis genéticos y se han confirmado mediante experimentos genéticos y bioquímicos moleculares.

Algunas características de la expresión génica procariota son únicas

Antes de que se pueda explicar la fisiología de la expresión génica, deben definirse algunos términos genéticos y reguladores especializados para los sistemas procariotas. En procariotas, los genes implicados en una ruta metabólica están presentes a menudo en una matriz lineal llamada **operón**, por ejemplo, el operón *lac*. Un operón puede ser regulado por un único promotor o región reguladora. El **cistrón** es la unidad más pequeña de expresión genética. Un único mRNA que codifica más de una proteína traducida por separado se denomina **mRNA policistrónico**. Por ejemplo, el mRNA del operón *lac* policistrónico se traduce en tres proteínas separadas (véase más adelante). Los operones y los mRNA policistrónicos son comunes en las bacterias pero no en los organismos de células eucariotas.

Un **gen inducible** es aquel cuya expresión aumenta en respuesta a un **inductor** o **activador**, una señal de regulación positiva específica. En general, los genes inducibles tienen niveles basales de transcripción relativamente bajos. Por el contrario, los genes con altos niveles basales de transcripción están sujetos a menudo a la regulación negativa por represores.

La expresión de algunos genes es **constitutiva**, lo que significa que se expresan a un nivel razonablemente constante y no se sabe que estén sujetos a regulación. A menudo se les conoce como **genes de mantenimiento**. Como resultado de la mutación, algunos productos génicos inducibles se expresan constitutivamente. Una mutación que da como resultado la expresión constitutiva de lo que antes era un gen regulado se denomina **mutación constitutiva**.

El análisis del metabolismo de la lactosa en la *E. coli* llevó al descubrimiento de los principios básicos de activación y represión de la transcripción de genes

Jacob y Monod describieron en 1961 su **modelo de operón** en un artículo clásico. Su hipótesis se basó en gran medida en observaciones sobre la regulación del metabolismo de la lactosa por la bacteria intestinal *E. coli*. Los mecanismos moleculares responsables de la regulación de los genes implicados en el metabolismo de la lactosa se encuentran ahora entre los mejor entendidos en cualquier organismo. La betagalactosidasa hidroliza la betagalactósido lactosa a galactosa y glucosa. El gen que codifica la betagalactosidasa (*lacZ*) está agrupado con los genes que codifican la lactosa permeasa (*lacY*) y la tiogalactósido transacetilasa (*lacA*). Los genes que codifican estas tres enzimas, junto con el promotor *lac* y el operador *lac* (una región reguladora), y el gen *lacI* que codifica al represor LacI están físicamente unidos y constituyen el **operón *lac*** como se representa en la figura 38-2.

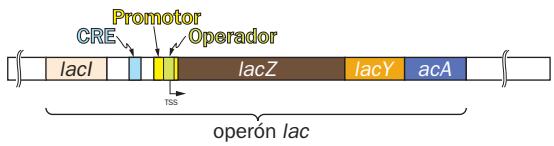


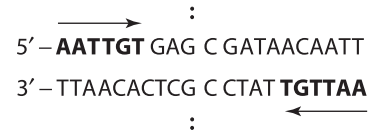
FIGURA 38-2 Las relaciones posicionales de los elementos reguladores y de codificación de la proteína del operón *lac* ~6kbp. El *lacZ* codifica betagalactosidasa, *lacY* codifica una permeasa, y *lacA* codifica una tiogalactósido transacetilasa. El *lacI* codifica la proteína represora del operón *lac*. También se muestra el sitio de inicio de la transcripción para la transcripción del operón lac (TSS, *transcription start site*). Tenga en cuenta que el sitio de unión para la proteína LacI (es decir, el represor lac), el operador *lac* (Operador) se superpone al promotor *lac*. Inmediatamente corriente arriba del promotor del operón *lac* está el sitio de unión (CRE) para la proteína de unión a cAMP, CAP, el regulador positivo de la transcripción del operón *lac*. Véase figura 38-3 para más detalles.

Esta disposición genética del operón *lac* permite la **expresión coordinada** de las tres enzimas relacionadas con el metabolismo de la lactosa. Cada uno de los genes del operón enlazado se transcribe en una molécula grande de mRNA policistrónico que contiene múltiples codones independientes de inicio de traducción (AUG) y de detención (UAA) para cada uno de los tres cistrones. Por tanto, cada proteína se traduce por separado, y no se procesan a partir de una única proteína precursora grande.

Actualmente resulta convencional considerar que un gen incluye secuencias reguladoras, así como también la región que codifica la transcripción primaria. Aunque hay muchas excepciones, un gen se pone generalmente en cursiva y en minúsculas y la proteína codificada, cuando se abrevia, se expresa en tipo romano con la primera letra en mayúscula. Por ejemplo, el gen *lacI* codifica la proteína represora LacI. Cuando la *E. coli* se presenta con lactosa o algunos análogos de lactosa específicos en condiciones apropiadas de no represión (p. ej., altas concentraciones de lactosa, ausencia o nivel muy bajo de glucosa en el medio véase más adelante), la expresión de las actividades de la betagalactosidasa, la galactósido permeasa y la tiogalactósido transacetilasa se incrementan de 100 a 1 000 veces. Esta es una respuesta de tipo A, como se muestra en la figura 38-1. La cinética de inducción puede ser bastante rápida; los mRNA específicos de *lac* se inducen completamente en ~5 minutos después de la adición de lactosa a un cultivo; la concentración de la proteína betagalactosidasa es máxima en 10 minutos. En condiciones completamente inducidas, puede haber hasta 5 000 moléculas de betagalactosidasa por célula, una cantidad aproximadamente 1 000 veces mayor que el nivel basal no inducido. Tras la eliminación de la señal, es decir, el inductor, la síntesis de estas tres enzimas disminuye.

Cuando la *E. coli* está expuesta a la lactosa y a la glucosa como fuentes de carbono, las células primero metabolizan la glucosa y luego dejan de crecer temporalmente hasta que los genes del operón *lac* se inducen para proporcionar la capacidad de metabolizar la lactosa como fuente de energía utilizable. Aunque la lactosa está presente desde el comienzo de la fase de crecimiento bacteriano, la célula no induce las enzimas necesarias para el catabolismo de la lactosa hasta que la glucosa se haya agotado. Primero se pensó que este fenómeno era atribuible a la represión del operón *lac* por algún catabolito de glucosa; por tanto, se denominó represión de catabolitos. Ahora se sabe que la represión de los catabolitos está de hecho mediada por una **proteína activadora de catabolitos** (**CAP,** *catabolite activator protein*) en conjunción con **3', 5' monofosfato de adenosina cíclico** (**cAMP,** *3',5' cyclic adenosine monophosphate*; véase figura 18-5). Esta proteína también se conoce como la proteína reguladora cAMP (CRP, *cAMP regulatory protein*). La expresión de muchos sistemas de enzimas inducibles u operones en la *E. coli* y otros procariotas es sensible a la represión de los catabolitos, como se analiza más adelante.

La fisiología de la inducción del operón *lac* se comprende bien a nivel molecular (**figura 38-3**). La expresión del gen *lacI* normal del operón *lac* es constitutiva; se expresa a una velocidad constante, dando como resultado la formación de las subunidades del **represor lac**. Cuatro subunidades idénticas con pesos moleculares de 38 000 se ensamblan en una molécula represora Lac tetramérica. La molécula de proteína represora LacI, el producto de *lacI*, tiene una afinidad muy alta (constante de disociación, K_d de aproximadamente 10-13 mol/L) para el *locus* del operador. El ***locus* operador** es una región del DNA de doble hebra que muestra una simetría rotacional doble y un palíndromo invertido (indicado por flechas sobre el eje punteado) en una región de 21 pb de longitud, como se muestra a continuación:



En un momento dado, sólo dos de las cuatro subunidades del represor parecen unirse al operador, y dentro de la región de 21 pares de bases casi cada uno está involucrado en el reconocimiento y enlace LacI. La unión ocurre principalmente en la **hendidura mayor** sin interrumpir la naturaleza de doble hélice emparejada por bases del DNA operador. El ***locus* operador** se encuentra entre el sitio del promotor, al que se une la RNA polimerasa dependiente del DNA para comenzar la transcripción, y el sitio de iniciación de la transcripción del **gen *lacZ***, el gen estructural para la betagalactosidasa (figura 38-2). Cuando se une al *locus* del operador, la molécula represora LacI evita la transcripción de los genes estructurales distales, *lacZ*, *lacY* y *lacA* al interferir con la unión de la RNA polimerasa al promotor; la RNA polimerasa y el represor LacI no pueden unirse eficazmente al operón *lac* al mismo tiempo. Por tanto, la molécula represora LacI es un **regulador negativo**, y en su presencia (y en ausencia del inductor, véase más adelante), la expresión de los genes *lacZ*, *lacY* y *lacA* es demasiado baja. Por lo general existen aproximadamente 30 moléculas represoras de tetrámero en la célula, una concentración (3×10^{-8} mol/L) de tetrámero suficiente para efectuar, en cualquier momento dado, una ocupación >95% del elemento operador de una *lac* en una bacteria, asegurando así la transcripción génica basal baja (pero no cero) del operón *lac* en ausencia de señales inductoras.

Un análogo de la lactosa que es capaz de inducir al operón *lac,* mientras que no sirve por sí mismo como sustrato para la betagalactosidasa, es un ejemplo de un **inductor gratuito**. Un ejemplo es el **isopropiltiogalactósido** (**IPTG,** *isopropylthiogalactoside*). La adición de lactosa o de un inductor gratuito como IPTG a bacterias que crecen en una fuente de carbono poco utilizada (como succinato) da como resultado la inducción rápida de las enzimas del operón *lac*. Pequeñas cantidades del inductor gratuito o de lactosa pueden ingresar a la célula, incluso en ausencia de permeasa. Las moléculas represoras LacI, tanto las unidas a los *loci* operadores como las que están libres en el citosol, tienen una alta afinidad por el inductor. La unión del inductor a la molécula represora induce un cambio conformacional en la estructura del represor que causa una disminución en la ocupación del operador del DNA porque su afinidad por el operador es ahora 10^4 veces menor (K_d de aproximadamente 10^{-9} mol/L) que la de LacI en ausencia de IPTG. La RNA polimerasa dependiente del DNA puede unirse ahora al promotor (es decir, las figuras 36-3 y 36-8), y comenzará la transcripción, aunque este proceso es relativamente ineficaz (véase más adelante). De tal manera, **un inductor desreprime el operón *lac*** y permite la transcripción de los genes que codifican betagalactosidasa, galactósido permeasa y tiogalactósido transacetilasa. La traducción del mRNA policistrónico puede ocurrir incluso antes que se complete la transcripción. La eliminación del operón *lac* permite a la célula sintetizar las enzimas necesarias para catabolizar la lactosa como fuente de energía. Sobre la base de la fisiología que se acaba de describir, la expresión inducida por IPTG de plásmidos transfectados, que llevan el promotor ligado al operador *lac* a constructos de bioingeniería apropiados, se usa comúnmente para expresar proteínas recombinantes de mamífero en *E. coli*.

Para que la RNA polimerasa forme un PIC en el sitio del promotor más eficientemente, el complejo cAMP-CAP también debe

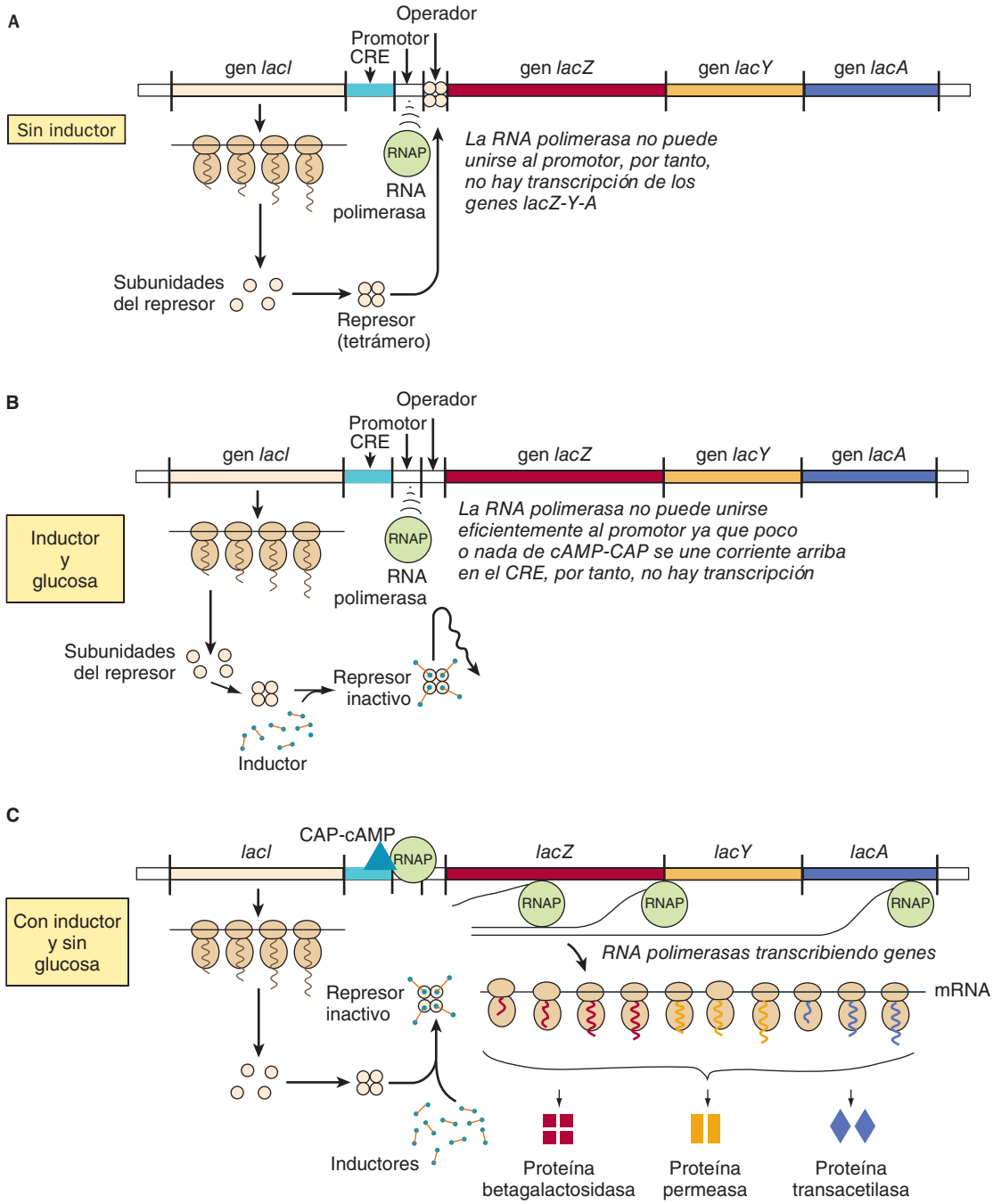


FIGURA 38-3 El mecanismo de represión, desrepresión y activación del operón *lac*. Cuando no está presente ningún inductor (A), los productos del gen *lacI* constitutivamente sintetizados forman un tetrámero represor que se une al operador. La unión represor-operador evita la unión de la RNA polimerasa y en consecuencia evita la transcripción de los genes estructurales *lacZ, lacY* y *lacA* en un mRNA policistrónico. Cuando el inductor está presente, pero la glucosa también lo está en el medio de cultivo (B), las moléculas represoras tetrámeras se modifican conformacionalmente por el inductor, y no se pueden unir de manera eficiente al *locus* operador (afinidad de unión reducida >1 000 veces). Sin embargo, la RNA polimerasa no se unirá de modo eficiente al promotor ni iniciará la transcripción porque no se producen interacciones proteína-proteína positivas entre la proteína CAP unida a CRE; por tanto, el operón *lac* no se transcribe de forma eficiente. Sin embargo, cuando el inductor está presente, y la glucosa se agota del medio (C), la adenilil cilasa se activa y se produce cAMP. Este cAMP se une con alta afinidad a su proteína de unión, la proteína activadora de AMP cíclico, o CAP. El complejo CAP-cAMP se une a su secuencia de reconocimiento [(CRE, *cAMP response element*) el elemento de respuesta cAMP] en la coordenada -50 del nucleótido del operón *lac*. Los contactos directos proteína-proteína entre la CAP unida a CRE y la RNA polimerasa aumentan la unión del promotor >20 veces; por tanto, RNAP transcribirá eficazmente el operón *lac y la molécula de lacZ-lacY-lacA* de mRNA policistrónico formada puede traducirse en las correspondientes moléculas de proteína betagalactosidasa, permeasa y transacetilasa, como se muestra. Esta producción de proteínas permite el catabolismo celular de lactosa como la única fuente de carbono para el crecimiento.

estar presente en la célula. Mediante un mecanismo independiente, la bacteria acumula cAMP sólo cuando se priva de una fuente de carbono. En presencia de glucosa, o de glicerol en concentraciones suficientes para el crecimiento, las bacterias carecerán de suficiente cAMP para unirse a la CAP debido a que la glucosa inhibe la adenilil ciclasa, la enzima que convierte el ATP en cAMP (véase capítulo 42). Por tanto, en presencia de glucosa o glicerol, hay carencia de CAP saturado con cAMP, por lo que la RNA polimerasa dependiente del DNA no puede iniciar la transcripción del operón *lac* a la velocidad máxima. Sin embargo, en presencia del complejo CAP-cAMP, que se une al **elemento de respuesta CAP (CRE)** del DNA justo corriente arriba del sitio del promotor, la transcripción se produce a niveles máximos (figura 38-3). Los estudios indican que una región de CAP contacta directamente con la subunidad α de la RNA polimerasa (RNAP, *RNA polymerase*), y estas interacciones proteína-proteína facilitan la unión de RNAP al promotor. Por tanto, el regulador CAP-cAMP actúa como un **regulador positivo** porque su presencia es necesaria para la expresión génica óptima. Por consiguiente, el operón *lac* está controlado por dos *trans*factores de unión al DNA modulados por ligando; uno que actúa positivamente (complejo cAMP-CRP) para facilitar la unión productiva de la RNA polimerasa al promotor y uno que actúa negativamente (represor LacI) que antagoniza la unión del promotor de la RNA polimerasa. La actividad máxima del operón *lac* ocurre cuando los niveles de glucosa son bajos (cAMP elevado con activación de CAP) y la lactosa está presente (se impide que LacI se una al operador).

Cuando el gen *lacI* ha sido mutado de modo que su producto, LacI, no es capaz de unirse al DNA del operador, el organismo mostrará la **expresión constitutiva** del operón *lac*. De manera contraria, un organismo con una mutación del gen *lacI* que produce una proteína LacI, la cual evita la unión de la lactosa u otro inductor de molécula pequeña al represor, permanecerá reprimido, incluso en presencia de la molécula inductora, porque tales ligandos no se pueden unir al represor en el *locus* del operador para desreprimir el operón. De forma similar, las bacterias que albergan mutaciones en su *locus* de operador *lac* de modo que la secuencia del operador no se una a una molécula represora normal expresará constitutivamente los genes del operón *lac*. Se han observado mecanismos de regulación positiva y negativa comparables a los descritos aquí para el sistema *lac* en células eucariotas (véase más adelante).

El interruptor genético del bacteriófago lambda (λ) proporciona otro paradigma para comprender el papel de las interacciones proteína-DNA en la regulación de la transcripción en células eucariotas

Al igual que algunos virus eucariotas (p. ej., virus del herpes simple y HIV), ciertos virus bacterianos pueden residir en un estado latente dentro de los cromosomas del huésped o pueden replicarse dentro de la bacteria y finalmente conducir a la lisis y a la muerte del huésped bacteriano. Algunas *E. coli* albergan semejante virus "templado", el bacteriófago lambda (λ). Cuando el lambda infecta un organismo de esa especie, inyecta su genoma de DNA lineal bicatenario de 45 000 pb en la célula (**figura 38-4**). Dependiendo del estado nutricional de la célula, el DNA lambda se integrará en el genoma del huésped **(ruta lisogénica)** y permanecerá latente hasta que se active (véase más adelante), o comenzará a **replicarse** hasta que haya realizado casi 100 copias del virus con cobertura proteica, en cuyo punto provoca la lisis de su huésped **(ruta lítica).** Las partículas de virus recién generadas pueden in-

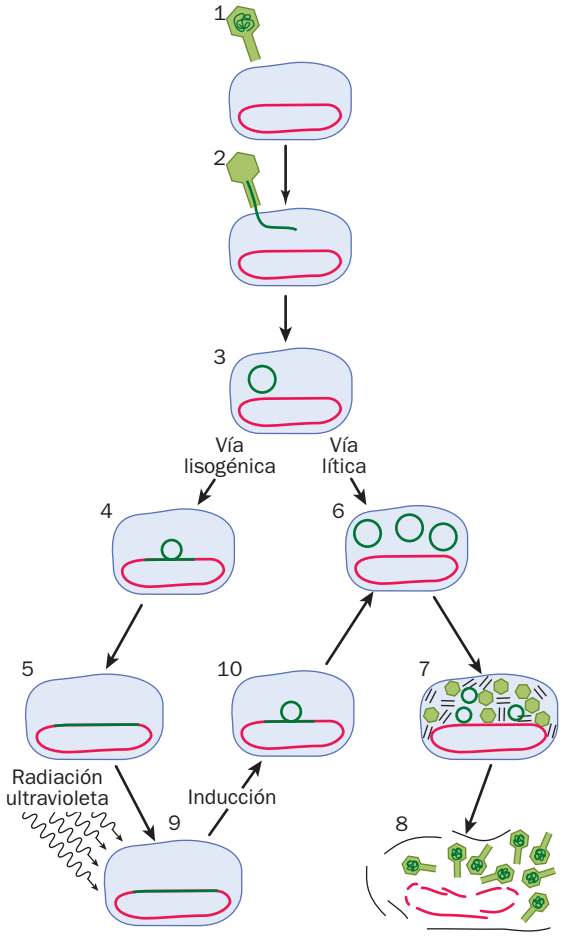


FIGURA 38-4 Estilos de vida alternativos de un bacteriófago lambda. La infección de la bacteria *E. coli* por el fago lambda comienza cuando una partícula del virus se adhiere a receptores específicos en la superficie celular bacteriana (**1**) e inyecta su ADN (línea verde oscura) en el interior de la célula, (**2**) donde el genoma del fago se vuelve circular. (**3**) La infección puede tomar cualquiera de dos cursos, dependiendo de cuál de los dos conjuntos de genes virales esté activado. En la vía lisogénica el ADN viral se integra en el cromosoma bacteriano (rojo) (**4, 5**), donde se replica de forma pasiva como parte del ADN bacteriano durante la división celular de la *E. coli*. Este virus latente, genómicamente integrado, se llama profago, y la célula que lo alberga se llama lisógeno. En la otra alternativa, definida como modo de infección lítico, el ADN viral se escinde del cromosoma de la *E. coli* y se replica a sí mismo (**6**) para dirigir la síntesis de proteínas virales (**7**). Se forman entonces alrededor de 100 nuevas partículas de virus. Los virus en proliferación inducen la lisis de la célula (**8**). Un profago puede ser "inducido" por un agente lesivo del ADN, como la radiación ultravioleta (**9**). El agente inductor lanza un interruptor (véase el texto y la figura 38-5; el "interruptor molecular" de λ), de modo que se activa un conjunto diferente de genes virales. El ADN viral se despega y se escinde del cromosoma de *E. coli* (**10**) y se replica; el virus luego procede siguiendo la vía lítica. (Reproducido con permiso de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. *Sci Am* [Nov] 1982;247:128.)

fectar otras células huéspedes sensibles. Las malas condiciones de crecimiento favorecen la lisogenia, mientras que las buenas condiciones de crecimiento estimulan la ruta lítica del crecimiento del lambda.

Cuando se integra en el genoma del huésped en su estado latente, el lambda permanecerá en ese estado hasta que se active exponiendo a su huésped bacteriano a agentes que dañan el DNA. En respuesta a tal estímulo nocivo, el bacteriófago inactivo se "induce" y comienza a transcribir y luego a traducir los genes de su propio genoma que son necesarios para su escisión del cromosoma del huésped, su replicación del DNA y la síntesis de su capa de proteína y las enzimas de la lisis. Este evento actúa como un disparador o como una respuesta de tipo C (figura 38-1); es decir, una vez que el lambda inactivo se ha sometido a la inducción, no hay vuelta atrás hasta que la célula se haya lisado y se haya liberado el bacteriófago replicado. Este cambio de un estado latente o **estado de profago** a una **infección lítica** se entiende bien a nivel genético y molecular y se describirá en detalle aquí. Aunque menos comprendidos a nivel molecular, los virus del HIV y del herpes pueden comportarse de manera similar, pasando de estados latentes a estados activos en humanos infectados.

El evento de cambio genético lítico/lisogénico en el lambda se centra alrededor de una región de 80 pb en su genoma de DNA de doble hebra denominado "operador derecho" (O_R, *right operator*) (**figura 38-5A**). El **operador derecho** está flanqueado en su lado izquierdo por el gen para la proteína represora lambda, ***cI***, y en su lado derecho por el gen que codifica otra proteína reguladora, el gen ***cro***. Cuando el lambda se encuentra en estado profago, es decir, integrado en el genoma del huésped, el gen represor *cI* es el **único** gen lambda que se expresa. Cuando el bacteriófago experimenta un crecimiento lítico, el gen represor *cI* no se expresa, pero se expresa el gen *cro*, así como muchos otros genes lambda.

Por tanto, cuando el gen represor *cI* está activado, el gen *cro* está desactivado, y cuando el gen *cro* está activado, el gen represor cI está desactivado. Como veremos, estos dos genes regulan la expresión de cada uno y, por tanto, en última instancia, la decisión entre el crecimiento lítico y lisogénico de lambda. Esta decisión entre la transcripción del gen represor y la transcripción del gen *cro* es un ejemplo paradigmático de un cambio en la transcripción molecular.

El operador derecho lambda de 80 pb, O_R, se puede subdividir en tres elementos de DNA *cis*activos discretos, uniformemente espaciados, de 17 pb que representan los sitios de unión para cualquiera de las dos proteínas reguladoras del bacteriófago lambda. De manera importante, las secuencias de nucleótidos de estos tres sitios dispuestos en tándem son similares pero no idénticas (**figura 38-5B**). Los tres elementos *cis* relacionados, denominados operadores O_R1, O_R2 y O_R3, pueden estar unidos por proteínas cI o Cro. Sin embargo, las afinidades relativas de cI y Cro para cada uno de los sitios varían, y esta afinidad de unión diferencial es fundamental para la operación apropiada del "interruptor molecular" lítico o lisogénico del fago lambda. La región de DNA entre los genes *cro* y represor también contiene dos secuencias promotoras que dirigen la unión de la RNA polimerasa en una orientación especificada, donde comienza a transcribir genes adyacentes. Un promotor dirige la RNA polimerasa para transcribir en dirección hacia la derecha y, por tanto, para transcribir *cro* y otros genes distales, mientras que el otro promotor dirige la transcripción del gen represor *cI* hacia la izquierda (figura 38-5B).

El producto del gen represor *cI*, la **proteína represora λ cI** de 236 aminoácidos es una molécula de **dos dominios** con un **dominio de unión al DNA amino terminal** (**DBD,** *DNA-binding domain*) y un **dominio de dimerización carboxilo terminal**. La asociación de una proteína represora con otra, forma un dímero. Los **dímeros** del represor cI se unen al DNA del operador mucho más estrechamente que los monómeros (**figura 38-6A a 38-6C**).

El producto del gen *cro*, la **proteína Cro** de 66 aminoácidos, 9 kDa, tiene un dominio único pero también se une al DNA del operador más fuertemente como un dímero (figura 38-6D). El dominio único de la proteína Cro media tanto la unión del operador como la dimerización.

En una bacteria lisogénica, es decir, una bacteria que contiene un profago lambda latente integrado, el dímero represor lambda se une preferentemente a O_R1 pero al hacerlo, mediante una interac-

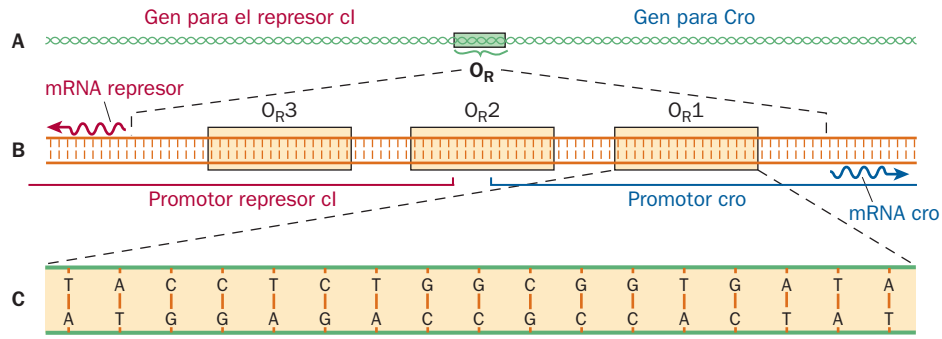


FIGURA 38-5 Organización genética del "interruptor molecular" del estilo de vida de lambda. El operador derecho (O_R) se muestra con mayor detalle en esta serie de dibujos. El operador es una región del DNA viral de casi 70 pb de longitud (A). A su izquierda se encuentra el gen que codifica el represor lambda (*cI*), a su derecha el gen (*cro*) que codifica la proteína reguladora Cro. Cuando la región del operador se agranda (B), se ve que incluye tres subregiones denominadas operadores: O_R1, O_R2 y O_R3, cada uno de 17 bp de longitud. Estos tres elementos del DNA son sitios de reconocimiento a los que se pueden unir tanto el represor λ cI como las proteínas Cro. Los sitios de reconocimiento se superponen a dos promotores divergentes: secuencias de bases a las que se une la RNA polimerasa para transcribir estos genes en mRNA (líneas onduladas) que se traducen en la proteína. El sitio O_R1 se amplía (C) para mostrar su secuencia de base. (Reproducido con permiso de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO. Un interruptor genético en un virus bacteriano. *Sci Am* 1982 nov;247:128).

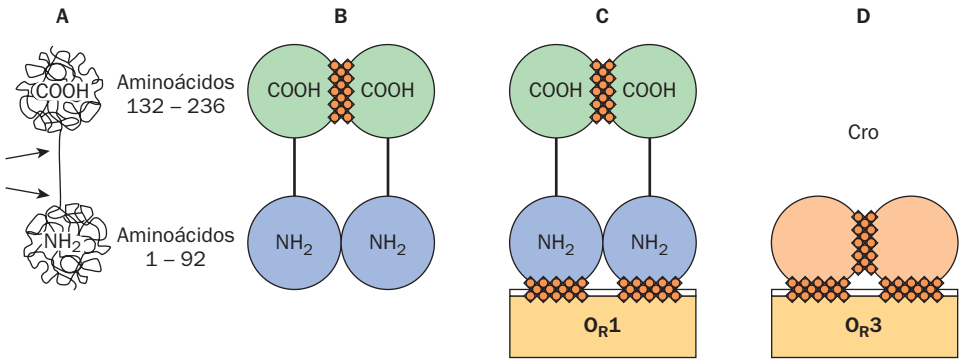


FIGURA 38-6 Estructuras moleculares esquemáticas de las proteínas reguladoras lambda cI y Cro. La proteína represora lambda es un polipéptido de 236 aminoácidos. La cadena se pliega en una forma de mancuerna con dos subestructuras: un dominio amino terminal (NH_2) y un dominio carboxilo terminal (COOH). Los dos dominios están unidos por una región de la cadena que está menos estructurada y es susceptible de escisión por proteasas (indicada por las dos flechas en A). Las moléculas represoras individuales (monómeros) tienden a asociarse de forma reversible para formar dímeros. B) Un dímero se mantiene unido principalmente por contacto entre los dominios carboxilo terminales (sombreado). Los dímeros represores de cI se unen a (y pueden disociarse de) los sitios de reconocimiento en la región del operador; muestran afinidades diferenciales para los tres sitios del operador, $O_R1 > O_R2 > O_R3$ (C). Es el dominio de unión al DNA (DBD) de la molécula represora que hace contacto con el DNA (sombreado). Cro (D) tiene un dominio único que promueve la dimerización cro-cro, y un DBD que promueve la unión de dímeros al operador. Resulta importante que cro muestra la mayor afinidad por O_R3, frente a la preferencia por la unión a la secuencia de la proteína cI**.** (Reproducido con permiso de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO. Un interruptor genético en un virus bacteriano. *Sci Am* 1982 nov;247:128).

ción cooperativa, mejora la unión (por un factor de 10) de otro represor dímero a O_R2 (**figura 38-7**). La afinidad del represor por O_R3 es la menor de las tres subregiones operadoras. La unión del represor a O_R1 tiene dos efectos principales. En primer lugar, la ocupación de O_R1 por el represor bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor de la derecha y de ese modo evita la expresión de *cro*. En segundo lugar, como se mencionó antes, el dímero represor unido a O_R1 potencia la unión del dímero represor a O_R2. La unión del represor a O_R2 tiene el importante efecto añadido de potenciar la unión de la RNA polimerasa al promotor de la izquierda que superpone a O_R3 y, por tanto, mejora la transcripción y la posterior expresión del gen represor. Esta potenciación de la transcripción está mediada por interacciones proteína-proteína directas entre la RNA polimerasa unida al promotor y el represor unido a O_R2, de forma muy similar a la antes descrita para la proteína CAP y la RNA polimerasa en el operón *lac*. Por tanto, la proteína λ cI es a la vez un regulador negativo, al evitar la transcripción de *cro*, y un regulador positivo, potenciando la transcripción de su propio gen, *cI*. Este doble efecto de represor es responsable del estado estable del bacteriófago lambda latente; el represor no sólo evita la expresión de los genes necesarios para la lisis, sino que también estimula su propia expresión para estabilizar este estado de diferenciación. En caso de que la concentración de la proteína represora intracelular se vuelva muy alta, el represor en exceso se unirá a O_R3 y al hacerlo disminuirá la transcripción del gen represor del promotor de la izquierda, bloqueando la unión de RNAP al promotor cI, hasta que la concentración del represor disminuya y el represor se disocie de O_R3. Ejemplos similares de proteínas represoras que también tienen la capacidad de activar la transcripción se han observado en eucariotas.

Con semejante estado lisogénico estable, represivo, mediado por cI, uno podría preguntarse cómo se podría ingresar alguna vez al ciclo lítico. Sin embargo, este proceso ocurre con bastante eficiencia. Cuando una señal que daña el DNA, como la luz ultravioleta, golpea a la bacteria lisogénica del huésped, se generan fragmentos de DNA de hebra única que activan una coproteasa específica codificada por un gen bacteriano y se denomina *recA* (figura 38-7). La proteasa recA activada hidroliza la porción de la proteína represora que conecta los dominios amino terminal y carboxilo terminal de esa molécula (véase figura 38-6A). Dicha división de los dominios represores hace que los dímeros represores se disocien, lo que a su vez causa la disociación de las moléculas represoras de O_R2 y eventualmente de O_R1. Los efectos de la eliminación del represor de O_R1 y O_R2 son predecibles. La RNA polimerasa tiene acceso inmediato al promotor de la derecha, comienza a transcribir el gen *cro* y se pierde el efecto intensificador del represor en O_R2 en la transcripción hacia la izquierda (figura 38-7).

La proteína Cro resultante recién sintetizada también se une a la región del operador como un dímero, pero como se indicó antes, su orden de preferencia es opuesto al del represor (figura 38-7). Es decir, Cro se une de forma más fuerte a O_R3, pero no hay ningún efecto cooperativo de Cro en O_R3 en la unión de Cro a O_R2. A concentraciones cada vez más altas de Cro, la proteína se unirá a O_R2 y eventualmente a O_R1.

La ocupación de O_R3 por Cro detiene de manera inmediata la transcripción desde el promotor *cI* de la izquierda y de ese modo evita cualquier expresión adicional del gen represor. El interruptor molecular es completamente "lanzado" en la dirección lítica. El gen *cro* se expresa ahora y el gen represor se desactiva por completo. Este evento es irreversible, y la expresión de otros genes lambda comienza como parte del ciclo lítico. Cuando la concentración del represor Cro llega a ser bastante alta, ocupará eventualmente O_R1 y al hacerlo reducirá la expresión de su propio gen, un proceso que es necesario para efectuar las etapas finales del ciclo lítico.

Las estructuras tridimensionales de Cro y de la proteína represora lambda se han determinado mediante cristalografía de rayos X, y se han propuesto y probado modelos para su unión y para la realización de los eventos moleculares y genéticos antes descritos. Ambos se unen al DNA usando motivos DBD de hélice-giro-hélice (véase más adelante). Junto con la regulación de la expresión del

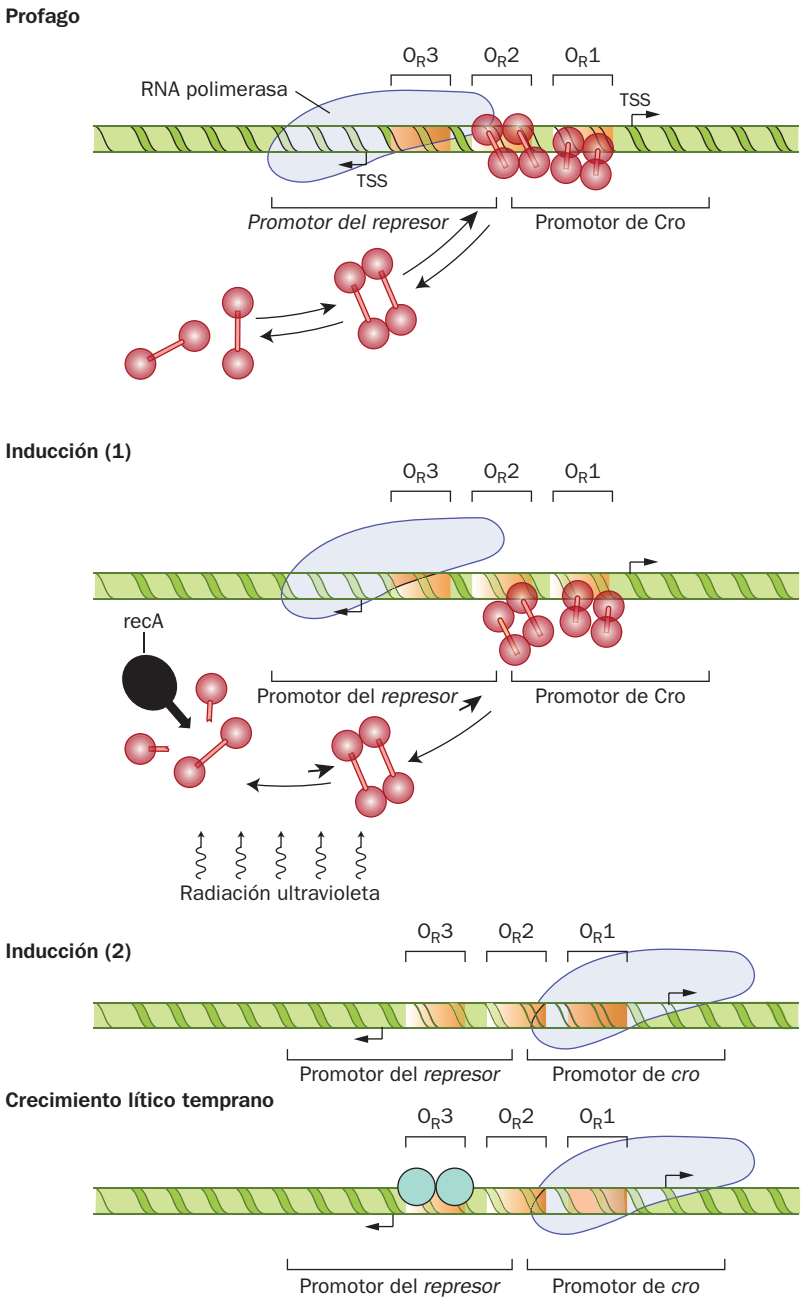


FIGURA 38-7 La configuración del interruptor lítico/lisogénico se muestra en cuatro etapas del ciclo de vida de lambda. La ruta lisogénica (en la que el virus permanece inactivo como profago) se selecciona cuando un dímero represor se une a O_R1, lo que hace probable que O_R2 se una inmediatamente a otro dímero debido a la naturaleza cooperativa de la unión de DNA cI-OR. En el profago (arriba), los dímeros represores unidos a O_R1 y O_R2 impiden que la RNA polimerasa se una al promotor de cro de la derecha y así bloqueen la síntesis de cro (control negativo). Simultáneamente estas proteínas cI unidas al DNA potencian la unión de la polimerasa al promotor izquierdo (control positivo), con el resultado de que el gen represor se transcribe en RNA (iniciación en el sitio de inicio de la transcripción del gen *cI*; TSS) y se sintetiza más represor, manteniendo el estado lisogénico. El profago se induce (**medio**) cuando la radiación ultravioleta activa la proteasa recA, que escinde los monómeros represores de cI. Inducción (1) el equilibrio de monómeros libres, dímeros libres y dímeros unidos se desplaza por la acción de masas y los dímeros se disocian de los sitios del operador. La RNA polimerasa ya no se estimula para unirse al promotor de la izquierda, por lo que el represor ya no se sintetiza. A medida que avanza la inducción, Inducción (2) queda vacante en todos los sitios del operador, por lo que la polimerasa se puede unir al promotor de la derecha y cro se sintetiza (se muestra *cro* TSS). Durante el crecimiento lítico temprano, un dímero de cro se une a O_R3 (círculos sombreados de color azul claro), el sitio para el que tiene la mayor afinidad ocluyendo así el promotor cI. Por consiguiente, la RNA polimerasa no puede unirse al promotor de la izquierda, pero el promotor de la derecha permanece accesible. La polimerasa continúa uniéndose allí, transcribiendo *cro* y otros genes líticos tempranos. Se produce un crecimiento lítico (**abajo**). (Reproducido con permiso de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO. Un interruptor genético en un virus bacteriano. *Sci Am* 1982 nov;247:128).

operón *lac*, el interruptor molecular λ descrito aquí proporciona tal vez la mejor comprensión de los eventos moleculares implicados en la activación y represión de la transcripción génica.

El análisis detallado del represor λ condujo al importante concepto de que las proteínas reguladoras de la transcripción tienen varios dominios funcionales. Por ejemplo, el represor lambda se une al DNA con alta afinidad. Los monómeros represores forman dímeros, interactúan cooperativamente entre sí y el represor interactúa con la RNA polimerasa, para potenciar o bloquear la unión del promotor o la formación del complejo abierto RNAP (véase figura 36-3). La interfaz proteína-DNA y las tres interfases proteína-proteína implican dominios separados y distintos de la molécula represora. Como se verá más abajo (véase figura 38-19), esta es una característica típica de la mayoría de las moléculas que regulan la transcripción.

CARACTERÍSTICAS ESPECIALES INVOLUCRADAS EN LA REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN DE GENES EUCARIOTAS

La mayor parte del DNA en las células procariotas está organizada en genes, y dado que el DNA no se compacta con los patrones de nucleosomas, siempre tiene el potencial de transcribirse si hay factores *trans* positivos y negativos apropiados en una célula dada en una forma activa. Algo muy diferente ocurre en células eucariotas, donde relativamente una pequeña parte del DNA total se organiza en genes que codifican mRNA y sus regiones reguladoras asociadas. La función del DNA adicional se está investigando activamente (es decir, capítulo 39; proyectos ENCODE). Más importante aún, como se describe en el capítulo 35, el DNA de las células eucariotas se pliega extensamente y se cubre en el complejo DNA-proteína llamado cromatina. Las histonas son una parte importante de este complejo, ya que ambas forman las estructuras conocidas como nucleosomas (véase capítulo 35) y también son factores importantes en los mecanismos reguladores de genes como se describe más adelante.

La plantilla de cromatina contribuye de manera importante al control de la transcripción de genes eucariotas

La estructura de la cromatina proporciona un nivel adicional de control de la transcripción génica. Como se discutió en el capítulo 35, grandes regiones de la cromatina son transcripcionalmente inactivas, mientras que otras son activas o potencialmente activas. Con pocas excepciones, cada célula contiene el mismo complemento de genes, por tanto, el desarrollo de órganos especializados, tejidos y células, y su función en el organismo intacto depende de la expresión diferencial de los genes.

Parte de esta expresión diferencial se logra al tener diferentes regiones de cromatina disponibles para la transcripción en células de diversos tejidos. Por ejemplo, el DNA que contiene el grupo de genes de la betaglobina está, en la **cromatina "activa"**, en el reticulocito, sin embargo, en la **cromatina "inactiva"** se encuentra en las células musculares.

Todos los factores involucrados en la determinación de la cromatina activa no han sido dilucidados. La presencia de nucleosomas y de complejos de histonas y DNA (véase capítulo 35) ciertamente proporciona una barrera contra la asociación fácil de factores de transcripción con regiones de DNA específicas. La dinámica de la formación y la interrupción de la estructura del nucleosoma es, por tanto, una parte importante de la regulación del gen eucariótico.

La **modificación covalente de histona**, también llamada el **código de histona**, es un determinante importante de la actividad del gen. Las histonas se someten a una amplia gama de modificaciones de postraducción específicas (véase cuadro 35-1). Estas modificaciones son dinámicas y reversibles. La acetilación y la desacetilación de histonas se entienden mejor. El sorprendente descubrimiento de que la histona acetilasa y otras actividades enzimáticas están asociadas con los correguladores implicados en la regulación de la transcripción génica (véase capítulo 42 para ejemplos específicos) ha proporcionado un nuevo concepto de regulación génica. Se sabe que la acetilación se produce en residuos de lisina en las colas amino terminales de las moléculas de histona, y se ha correlacionado consistentemente con la transcripción activa o, de modo alternativo, con el potencial de transcripción. La acetilación de histonas reduce la carga positiva de estas colas y tal vez contribuye a una disminución en la afinidad de unión de la histona por el DNA con carga negativa. Además, tal modificación covalente de las histonas crea nuevos sitios de unión o de acoplamiento para proteínas adicionales, como complejos de remodulación de cromatina dependientes de ATP que contienen subunidades que portan dominios estructurales, los cuales se unen específicamente a histonas que se han sometido a PTM depositados por un corregulador. Estos complejos pueden aumentar la accesibilidad de las secuencias de DNA adyacentes al eliminar o alterar las histonas nucleosómicas. Juntos, los correguladores (modificadores de cromatina y remodeladores de cromatina), trabajando en conjunto, pueden "abrir" promotores de genes y regiones reguladoras, facilitando la unión de otro factor *trans*, RNA polimerasa II y GTF (véanse figuras 36-10 y 36-11). La desacetilación de histonas catalizada por correpresores de transcripción tendría el efecto opuesto. Diferentes proteínas con actividades específicas de acetilasa y desacetilasa están asociadas con diversos componentes del aparato de transcripción. Las proteínas que catalizan las histonas PTM se denominan a veces **"escritoras de códigos"**, mientras que las proteínas que reconocen, unen y, por tanto, interpretan estas histonas PTM se denominan "**lectoras de códigos**" y las enzimas que eliminan las histonas PTM se denominan "**borradoras de códigos**". (La analogía con la transducción de señales, con sus proteínas quinasas, fosfatasas y fosfoaminoácidos que se unen debe ser aparente, véase capítulo 42.) Conjuntamente, estas PTM de histonas representan una fuente muy dinámica y potencialmente rica en información reguladora. Las reglas y los mecanismos exactos que definen la especificidad de estos procesos diversos están bajo investigación. Algunos ejemplos específicos se ilustran en el capítulo 42. Una variedad de empresas comerciales están trabajando para desarrollar medicamentos que modifiquen específicamente la actividad de las proteínas que orquestan el código de la histona.

Además del código de histona (véase capítulo 35) y sus efectos en todas las reacciones mediadas por DNA, la **metilación de residuos de desoxicitidina, 5MeC**, (en la secuencia 5'-^{me}CpG-3') en el DNA tiene efectos importantes en la cromatina, algunos de los cuales conducen a una disminución en la transcripción de genes. Por ejemplo, en el hígado de ratón, sólo se pueden expresar los genes ribosómicos no metilados, y existe evidencia de que muchos virus de animales no se transcriben cuando su DNA está metilado.

La desmetilación aguda de residuos de 5MeC en regiones específicas de genes inducibles por hormonas esteroideas se ha asociado con un aumento de la velocidad de transcripción del gen. Sin embargo, aún no es posible generalizar que el DNA metilado es inactivo transcripcionalmente, que toda la cromatina inactiva está metilada, o que el DNA activo no está metilado.

Finalmente, la unión de factores de transcripción específicos a elementos de DNA relacionados puede dar como resultado la alteración de la estructura nucleosomal. La mayoría de los genes eucariotas tienen múltiples elementos de DNA de unión a proteínas. La unión en serie de los factores de transcripción a estos elementos, de forma combinatoria, puede alterar directamente la estructura del nucleosoma, evitar su reforma o reclutar, a través de interacciones proteína-proteína, complejos correguladores multiproteicos que tienen la capacidad de modificar y/o remodelar los nucleosomas de forma covalente. Estas reacciones dan como resultado cambios estructurales a nivel de la cromatina que al final aumentan o disminuyen la accesibilidad del DNA a otros factores y a la maquinaria de transcripción.

El DNA eucariota que se encuentra en una región "activa" de cromatina puede transcribirse. Al igual que en las células procariotas, un **promotor** determina dónde la RNA polimerasa iniciará la transcripción, pero el promotor en las células de mamífero (véase capítulo 36) es más complejo. Se añade una complejidad adicional debida a los elementos o factores que mejoran o reprimen la transcripción, definen la expresión específica del tejido y modulan las acciones de muchas moléculas efectoras. Finalmente, los resultados recientes sugieren que la activación y represión de genes puede ocurrir cuando genes particulares se mueven dentro o fuera de diferentes compartimientos o ubicaciones subnucleares.

Los mecanismos epigenéticos contribuyen de manera importante al control de la transcripción génica

Las moléculas y la biología reguladora antes descritas contribuyen de manera significativa a la regulación transcripcional. De hecho, en los últimos años el papel de la modificación covalente de las proteínas de DNA e histona (y no histona) y los nuevos ncRNA descubiertos ha recibido una gran atención en el campo de la investigación de la regulación génica, particularmente a través de la investigación de cómo tales modificaciones químicas y/o moléculas alteran de manera estable los patrones de expresión génica sin alterar la secuencia del gen de DNA subyacente. Este campo de estudio se ha denominado **epigenética**. Como se mencionó en el capítulo 35, un aspecto de estos mecanismos, las PTM de histonas se ha denominado **código de histona** o código epigenético de histona. El término "epigenética" significa "por encima de la genética" y se refiere al hecho de que estos mecanismos regulatorios no cambian la secuencia regulada de DNA subyacente, sino simplemente los patrones de expresión, o función, de este DNA. Los mecanismos epigenéticos desempeñan un papel clave en el establecimiento, mantenimiento y reversibilidad de los estados transcripcionales. Una característica clave de los mecanismos epigenéticos es que los estados controlados de activación/desactivación de la transcripción se pueden mantener a través de múltiples rondas de división celular. Esta observación indica que debe haber mecanismos fuertes, basados en la bioquímica, para mantener y propagar de manera estable estos estados epigenéticos.

Se pueden describir **dos formas de señales epigenéticas:** ***cis*** y ***trans***; estas se ilustran esquemáticamente en la **figura 38-8**. En la figura 38-8A se representa un evento simple de *trans*-señalización compuesto por retroalimentación positiva transcripcional mediada por un transactivador abundante y difundible que se reparte de forma más o menos equitativa entre la célula madre y la célula hija en cada división. Siempre que el factor de transcripción indicado se exprese a un nivel suficiente para permitir que todas las células hijas subsiguientes hereden la señal *trans*-epigenética (factor de transcripción), dichas células tendrán el fenotipo celular o molecular dictado por los otros genes blanco de este activador de transcripción. En la figura 38-8, panel B, se muestra un ejemplo de cómo una señal *cis*epigenética (aquí como una marca de metilación de 5MeCpG específica) puede propagarse de forma estable a las dos células hijas después de la división celular. La marca de DNA hemimetilado (es decir, sólo uno de las dos hebras de DNA está modificada con 5MeC) generada durante la replicación del DNA dirige la metilación de la hebra nuevamente replicada a través de la acción de las metilasas de mantenimiento ubicuo del DNA. Esta metilación de 5MeC da como resultado que ambas hebras hijas del DNA tengan la marca *cis*epigenética completa.

Las señales epigenéticas tanto *cis* como *trans* pueden dar como resultado estados de expresión estables y heredables y, por tanto, representan, por lo general, respuestas de expresión génica de tipo C (es decir, figura 38-1). Sin embargo, es importante tener en cuenta que ambos estados se pueden revertir si las señales *trans*- o *cis*-epigenéticas se eliminan, por ejemplo, extinguiendo la expresión del factor de transcripción obligatorio (señal *trans*) o eliminando completamente una señal *cis*epigenética de DNA (a través de la desmetilación del DNA). Se han descrito enzimas que pueden eliminar tanto proteínas PTM como modificaciones de 5MeC.

La transmisión estable de estados activo/inactivo epigenéticos puede verse afectada por múltiples mecanismos moleculares. En la **figura 38-9** se muestran tres formas mediante las cuales las marcas epigenéticas *cis* pueden propagarse a través de una ronda de replicación de DNA. El primer ejemplo de transmisión de una marca epigenética implica la propagación de marcas de DNA 5MeC, y ocurre como se describió en la figura 38-8. El segundo ejemplo de transmisión del estado epigenético ilustra cómo puede propagarse una histona nucleosomal PTM (en este ejemplo, histona trimetilada H3 de lisina K-27; H3K27me3). En este caso, inmediatamente después de la replicación del DNA, tanto los nucleótidos marcados con H3K27me3 como los no marcados con H3 se reforman aleatoriamente en ambas hebras hijas de DNA. El **complejo represor 2 de policomb** (**PRC2,** *polycomb repressive complex* 2), compuesto de subunidades EED-SUZ12-EZH2 y RbAP, se une al nucleosoma que contiene la marca H3K27me3 preexistente a través de la subunidad EED. La unión de PRC2 a esta marca de histona estimula la actividad metilasa de la subunidad EZH2 de PRC2, lo que da como resultado la metilación local de H3 nucleosomal. Esta causa la transmisión completa y estable de la marca epigenética H3K27me3 a ambas cromátidas. Finalmente, la selección específica de *locus*/secuencia de las señales *cis*epigenéticas de histonas nucleosómicas se puede lograr a través de la acción de lncRNA como se muestra en la figura 38-9, panel C. Aquí un ncRNA específico interactúa con secuencias de DNA blanco y el complejo de RNA-DNA resultante es reconocido por RBP, una proteína de unión a RNA. Entonces, probablemente a través de una proteína adaptadora específica (A), el complejo RNA-DNA-RBP reclute un **complejo modificador de la cromatina** (CMC, *chromatin modifying complex*) que modifica localmente las histonas nucleosómicas. De nuevo, este mecanismo conduce a la transmisión de una marca epigenética estable.

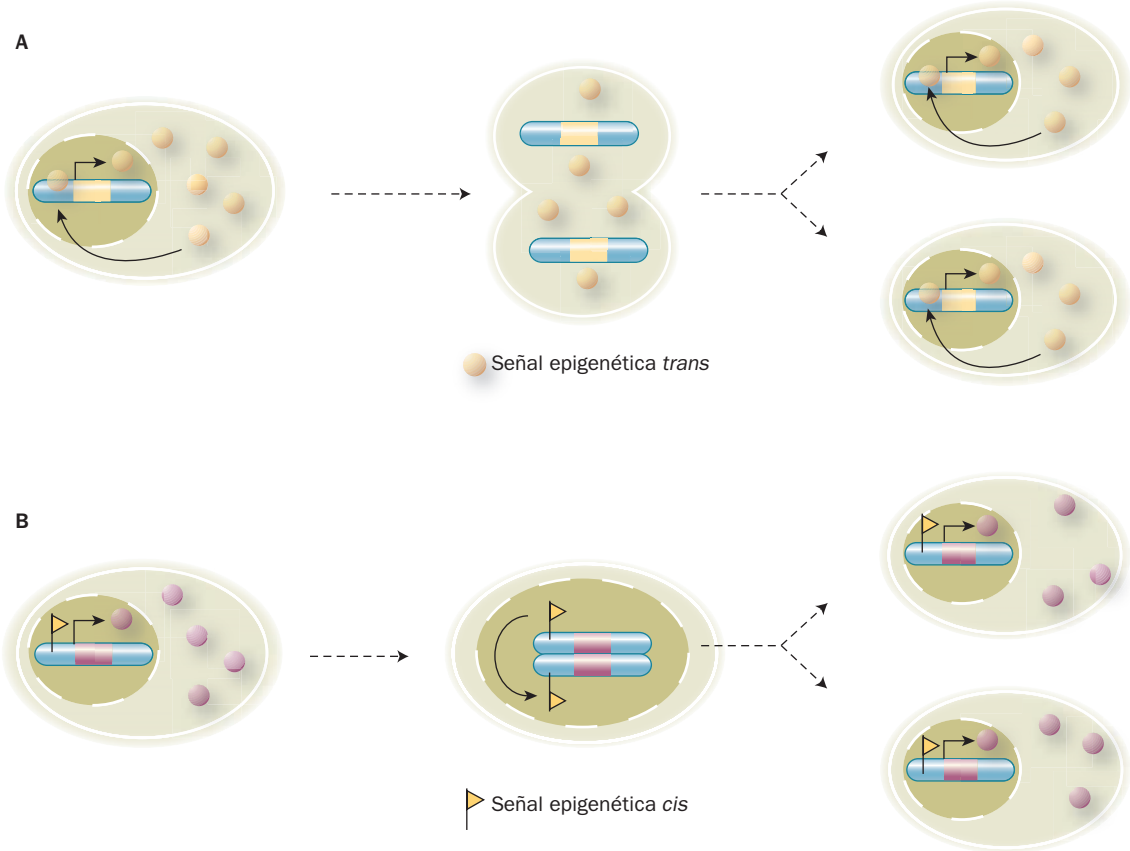


FIGURA 38-8 Señales epigenéticas *cis* y *trans*. A) Un ejemplo de una señal epigenética que actúa en trans. Se transcribe una proteína transactivadora de unión al DNA (círculo amarillo) a partir de su gen afín (barra amarilla) ubicado en un cromosoma particular (azul). La proteína expresada es libremente difundible entre compartimientos nucleares y citoplásmicos. Tenga en cuenta que el transactivador en exceso vuelve a entrar en el núcleo después de la división celular, se une a su propio gen y activa la transcripción en ambas células hijas. De hecho, este ciclo restablece el ciclo de retroalimentación positiva antes de la división celular y, por tanto, impone la expresión estable de esta proteína activadora transcripcional en ambas células. B) Una señal cisepigenética; un gen (rosa) ubicado en un cromosoma particular (azul) lleva una señal cisepigenética (pequeña bandera amarilla) dentro de la región reguladora corriente arriba de la unidad de transcripción del gen rosa. En este caso, la señal epigenética está asociada con la transcripción génica activa y la posterior producción de productos génicos (círculos rosados). Durante la replicación del DNA, la cromátida nuevamente replicada sirve como una plantilla que provoca y emplantilla la introducción de la misma señal o marca epigenética en la cromátida no marcada recién sintetizada. Por consiguiente, ambas células hijas contienen el gen rosa en un estado marcado *cis*epigenéticamente de forma similar, que asegura la expresión de un modo idéntico en ambas células. Véase el texto para más detalles. (Imagen tomada de Bonasio, R, Tu S, Reinberg D. Molecular signals of epigenetic states. *Science* 2010;330:612-616. Reimpreso con permiso de AAAS.)

Se requerirá trabajo adicional para establecer los detalles moleculares completos de estos procesos epigenéticos, determinar qué tan ubicuamente operan estos mecanismos, identificar el complemento completo de las moléculas involucradas y los genes controlados. Las señales epigenéticas son de importancia fundamental para la regulación génica, como lo demuestra el hecho de que las mutaciones y/o la sobreexpresión de muchas de las moléculas que contribuyen al control epigenético conducen a una enfermedad.

Ciertos elementos del DNA intensifican o reprimen la transcripción de genes eucariotas

Además de los grandes cambios en la cromatina que afectan a la actividad transcripcional, ciertos elementos del DNA facilitan o intensifican la iniciación en el promotor y, por tanto, se denominan **intensificadores**. Los elementos intensificadores, que contienen típicamente múltiples sitios de unión para las proteínas transactivadoras, difieren notablemente del promotor. Pueden ejercer su influencia positiva en la transcripción **incluso cuando están separados** por decenas de miles de pares de bases de un promotor; funcionan en cualquier dirección que se oriente; y pueden trabajar corriente arriba (5') o corriente abajo (3') desde el promotor.

Basados en experimentos, se puede demostrar que los intensificadores son promiscuos, ya que pueden estimular la transcripción de cualquier promotor en sus alrededores y pueden actuar sobre más de un promotor. El intensificador viral SV40 puede ejercer una influencia, por ejemplo, sobre la transcripción de betaglobina aumentando su transcripción 200 veces en células que contienen tanto el intensificador de SV40 como el gen de betaglo-

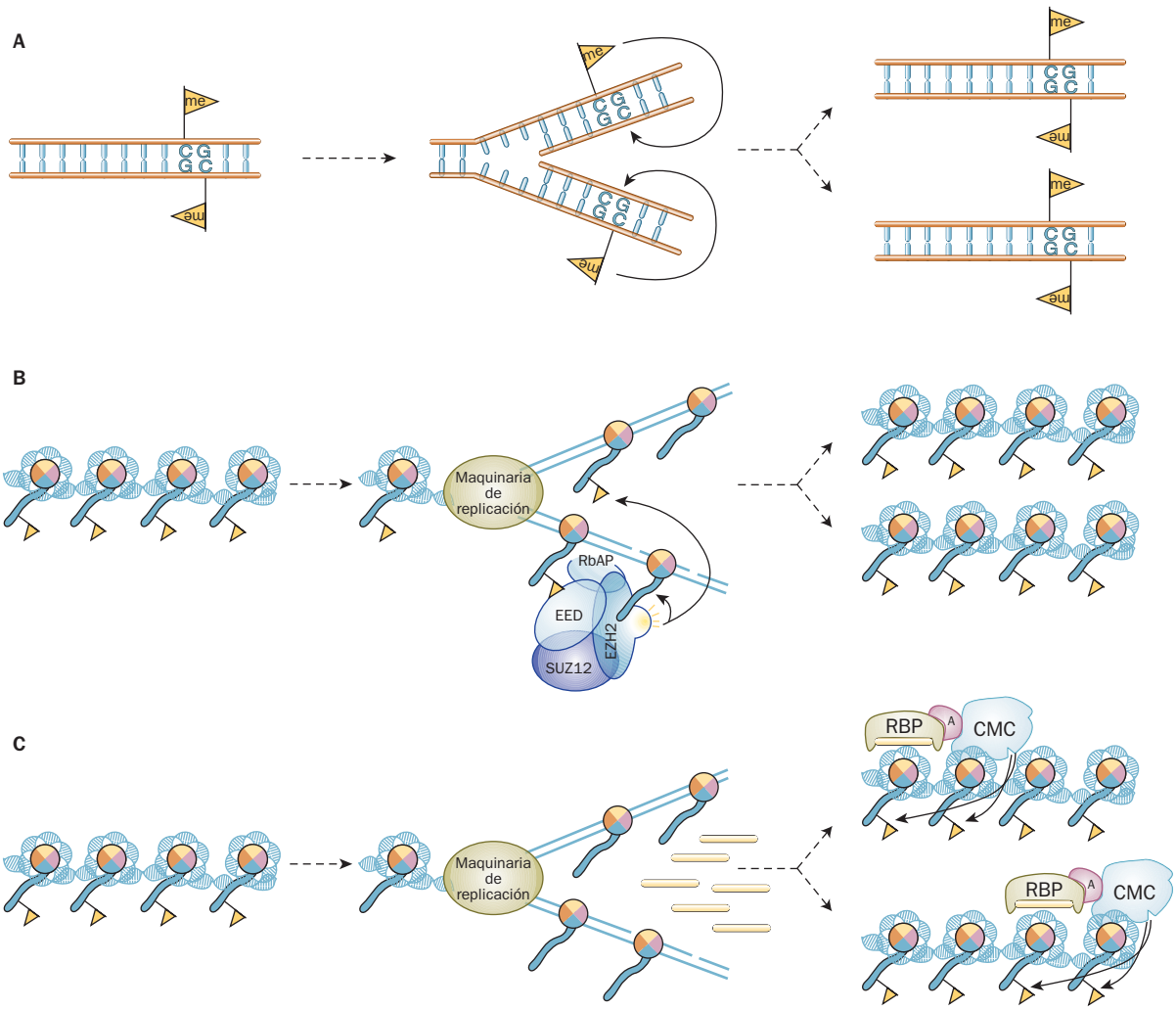


FIGURA 38-9 Mecanismos para la transmisión y propagación de señales epigenéticas después de una ronda de replicación de DNA. A) Propagación de una señal de 5MeC (bandera amarilla, véase figura 38-8B). B) Propagación de una señal epigenética de histona PTM (H3K27me) que está mediada por la acción de PRC2, un complejo modificador de la cromatina o CMC. El PRC2 está compuesto de subunidades EED, metilasa de histona EZH2, RbAP y SUZ12. Tenga en cuenta que en este contexto, PRC2 es tanto un lector de código de histona (a través del dominio de unión a histona metilado en EED) como un escritor de código de histona (a través del dominio SET metilasa de histona dentro de EZH2). La deposición de localización específica de la señal *cis* epigenética de la histona PTM está dirigida por el reconocimiento de las marcas H3K27me en histonas nucleosómicas preexistentes (bandera amarilla). C) Otro ejemplo de la transmisión de una señal epigenética de histona (bandera amarilla), excepto que aquí la señalización está mediada por la acción de pequeños ncRNA que trabajan de forma conjunta con una proteína de unión a RNA (RBP, RNA *binding protein*), una proteína adaptadora (A) y un CMC. Véase el texto para más detalles. (Imagen tomada de Bonasio R, Tu S, Reinberg D. Molecular signals of epigenetic states. *Science* 2010;330:612-616. Reimpreso con permiso de AAAS).

bina en el mismo plásmido (véase más adelante y en **figura 38-10**); en este caso, el gen de betaglobina intensificador de SV40 se construyó utilizando tecnología de DNA recombinante; véase el capítulo 39. El elemento intensificador no produce un producto que a su vez actúe sobre el promotor, ya que sólo está activo cuando existe dentro de la misma molécula de DNA como (es decir, en *cis*, o vinculado físicamente a) el promotor. Las proteínas intensificadoras de unión son responsables de este efecto. Los mecanismos exactos por los cuales funcionan estos activadores de la transcripción están sujetos a una investigación intensiva. Se ha demostrado que los factores *trans* intensificadores de unión, algunos de los cuales son específicos del tipo celular, mientras que otros se expresan de manera ubicua, interactúan con una plétora de otras proteínas de transcripción. Estas interacciones incluyen coactivadores modificadores de la cromatina, mediadores, así como los componentes individuales de la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II basal. Por último, los eventos intensificadores del transfactor de unión al DNA dan como resultado un aumento en la unión y/o la actividad de la maquinaria de transcripción basal en el promotor unido. Los elementos intensificadores y las proteínas de unión asociadas transmiten a menudo hipersensibilidad a la nucleasa a las regiones donde residen (véase capítulo 35). Un resumen de las propiedades de los intensificadores se presenta en el cuadro 38-2.

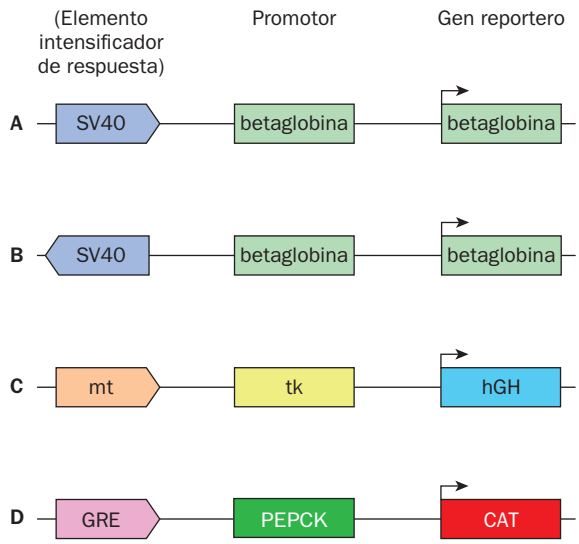


FIGURA 38-10 Un esquema que ilustra los métodos utilizados para estudiar la organización y la acción de intensificadores y otros elementos reguladores que actúan en *cis*. Estos genes quiméricos modelos, todos construidos mediante técnicas de DNA recombinante *in vitro* (véase capítulo 39), consisten en un gen reportero que codifica una proteína que puede analizarse fácilmente, y que por regla general no se produce en las células que se estudiarán, un promotor que asegura la iniciación precisa de la transcripción y los elementos intensificadores indicados (respuesta reguladora). En todos los casos, la transcripción de alto nivel a partir de las quimeras indicadas depende de la presencia de intensificadores, que estimulan la transcripción por ≥100 sobre los niveles transcripcionales basales (es decir, la transcripción de los mismos genes quiméricos que contienen promotores fusionados a los genes reporteros indicados). Los ejemplos (A) y (B) ilustran el hecho de que los intensificadores (p. ej., aquí SV40) funcionan en cualquier orientación y sobre un promotor heterólogo. El ejemplo (C) ilustra que el elemento regulador de metalotioneína (mt, *metallothionein*) (que bajo la influencia de cadmio o zinc induce la transcripción del gen mt endógeno y, por tanto, la proteína mt de unión a metales) funcionará a través del promotor del gen de la timidina quinasa (tk, *thymidine kinase*) del virus del *herpes simple* (HSV, herpes *simplex virus*) para potenciar la transcripción del gen informador de la hormona del crecimiento humano (hGH, *human growth hormone*). En un experimento separado, esta construcción genética modificada se introdujo en los pronúcleos masculinos de embriones de ratón de una sola célula y los embriones se colocaron en el útero de una madre suplente para desarrollarse como animales transgénicos. Las crías se han generado bajo estas condiciones, y en algunas la adición de iones de zinc a su agua de beber produce un aumento en la expresión de la hormona del crecimiento en el hígado. En este caso, estos animales transgénicos han respondido a los altos niveles de hormona del crecimiento al duplicar el tamaño de sus compañeros de camada normales. El ejemplo (D) ilustra que un intensificador del elemento de respuesta glucocorticoide (GRE, *glucocorticoid response element*) funcionará a través de promotores génicos homólogos (gen PEPCK) o heterólogos (no mostrado, es decir, promotor HSV *tk*, promotor SV40, promotor de betaglobina, etc.) para conducir la expresión del gen reportero de cloranfenicol acetiltransferasa (CAT, *chloramphenicol acetyltransferase*).

CUADRO 38-2 Resumen de las propiedades de los intensificadores

- Trabajan cuando se encuentran a largas distancias del promotor
- Trabajan cuando están corriente arriba o corriente abajo del promotor
- Trabajan cuando se orientan en cualquier dirección
- Pueden trabajar con promotores homólogos o heterólogos
- Trabajan uniendo una o más proteínas
- Trabajan mediante el reclutamiento de complejos correguladores modificadores de la cromatina
- Trabajan facilitando la unión o la función del complejo de transcripción basal en el promotor unido a *cis*

Uno de los sistemas intensificadores mejor comprendidos de mamíferos es el del gen del interferón β. Este se induce en la infección viral de células de mamíferos. Uno de los objetivos de la célula, una vez infectada por el virus, es intentar formar una respuesta antiviral, si bien no para salvar la célula infectada, sino para ayudar a salvar a todo el organismo de la infección. La producción de interferón es un mecanismo por el cual esto se logra. Esta familia de proteínas es secretada por células infectadas por virus. El interferón secretado interactúa con las células vecinas para causar una inhibición de la replicación viral por una variedad de mecanismos, lo que limita el alcance de la infección viral. El elemento intensificador que controla la inducción del gen del interferón β, que está localizado entre los nucleótidos –110 y –45 con relación al sitio de inicio de la transcripción (+1), está bien caracterizado. Este intensificador se compone de cuatro elementos *cis* agrupados al instante, cada uno de los cuales está ligado por *trans*factores únicos. Un elemento *cis* está unido por el factor de transacción NF-κB (véanse figuras 42-10 y 42-13), por un miembro de la familia de factores *trans*activadores del factor regulador de interferón (IRF, *interferon regulatory factor*) y por el factor de cremallera de leucina heterodimérico ATF-2/c-Jun (véase más adelante). El cuarto es el omnipresente y abundante factor de transcripción arquitectónico, conocido como HMG I (Y). Tras la unión a sus sitios de unión ricos en A + T, HMG I (Y) provoca una curva significativa en el DNA. Hay cuatro sitios de unión HMG I (Y) intercalados en todo el intensificador. Ellos desempeñan un papel crítico en la formación de una estructura 3D particular, junto con los tres factores *trans* antes mencionados, al inducir una serie de curvas de DNA críticamente espaciadas. Por consiguiente, HMG I (Y) induce la formación cooperativa de una estructura 3D estereoespecífica, única, dentro de la cual los cuatro factores están activos cuando las señales de infección viral son detectadas por la célula. La estructura formada por el ensamblaje cooperativo de estos cuatro factores se denomina interferón β enhanosoma (**figura 38-11**), llamada así por su similitud estructural obvia con el nucleosoma, que también es una estructura de proteína-DNA tridimensional única que envuelve el DNA sobre un conjunto central de proteínas (véanse figuras 35-1 y 35-2). El enhanosoma, una vez formado, induce un gran aumento en la transcripción del gen del interferón β tras la infección del virus. No es sólo la ocupación proteica de los sitios de elementos *cis* linealmente contiguos la que induce la transcripción del gen del interferón β, sino que es la formación del enhanosoma propiamente dicho la que proporciona superficies apropiadas para el reclutamiento eficiente de coactivadores que da como resultado la formación mejorada del PIC en el promotor unido a *cis* y, por tanto, la activación de la transcripción.

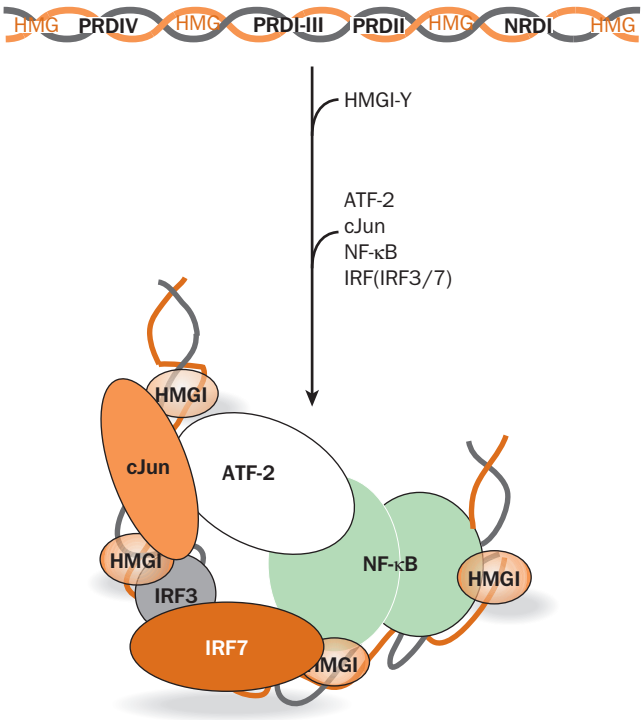


FIGURA 38-11 Formación y estructura putativa del enhanosoma formado en el intensificador del gen del interferón β humano. Representado diagramáticamente en la parte superior se encuentra la distribución de los múltiples elementos cis (HMG, PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) que componen el intensificador del gen del interferón β. El intensificador intacto media la inducción de transcripción del gen del interferón β (*IFNB1*) más 100 veces tras la infección del virus de las células humanas. Los elementos *cis* de este intensificador modular representan los sitios de unión para los *transfactores* HMG I (Y), cJun-ATF-2, IRF3-IRF7 y NF-κB, respectivamente. Los factores interactúan con estos elementos de DNA de manera obligatoria, ordenada y muy cooperativa, como lo indica la flecha. La unión inicial de cuatro proteínas HMG I (Y) induce curvas de DNA agudas en el intensificador, provocando que la región completa de 70-80 pb asuma un alto nivel de curvatura. Esta es esencial para la unión subsecuente y muy cooperativa de los otros *transfactores*, ya que la flexión permite a los factores vinculados con el DNA realizar interacciones cruciales directas proteína-proteína que contribuyen a la formación y estabilidad del enhanosoma y generan una única superficie 3D que sirve para reclutar correguladores modificadores de la cromatina que llevan actividades enzimáticas (p. ej., Swi/Snf: ATPasa, cromatina remodeladora y P/CAF: histona acetiltransferasa) así como la maquinaria de transcripción general (RNA polimerasa II y GTFs). Aunque cuatro de los cinco elementos *cis* (PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) pueden estimular de manera modesta (~10 veces) la transcripción de un gen reportero en las células transfectadas (véanse figuras 38-10 y 38-12), los cinco elementos *cis* se requieren, en el orden adecuado, para formar un intensificador que pueda estimular de forma apropiada la transcripción de *IFNB1* (es decir, ≥100 veces) en respuesta a la infección viral de una célula humana. Esta distinción indica el requisito estricto para la arquitectura correcta del enhanosoma para la *transactivación* eficiente. Se ha pensado que los enhanosomas similares, que implican distintos factores *cis*, *trans* y correguladores, forman muchos otros genes de mamíferos.

Los elementos del DNA que actúan en *cis* y disminuyen la expresión de genes específicos se denominan **silenciadores**. Estos también se han identificado en una serie de genes eucariotas. Sin embargo, debido a que se ha estudiado intensamente una menor cantidad de estos elementos, no es posible formular generalizaciones precisas sobre su mecanismo de acción. Dicho esto, está claro que en cuanto a la activación génica, las modificaciones covalentes a nivel de la cromatina de las histonas y otras proteínas, mediante represores reclutados por el silenciador y correpresores de subunidad múltiple de núcleo, desempeñan tal vez papeles centrales en estos eventos reguladores.

La expresión específica de tejido puede ser el resultado de la acción de intensificadores o represores o una combinación de ambos elementos reguladores que actúan en *cis*

Hoy se reconoce que la mayoría de los genes albergan elementos intensificadores en diversas ubicaciones en relación con sus regiones de codificación. Además de poder mejorar la transcripción génica, algunos de estos elementos intensificadores poseen la capacidad de hacerlo de una manera específica en el tejido. Al fusionar intensificadores o silenciadores específicos de tejido conocidos o supuestos a genes reporteros (véase más adelante) y al introducir estos constructos quiméricos intensificador-reportero mediante microinyección en embriones unicelulares, se puede crear un animal transgénico (véase capítulo 39) y probar, de manera rigurosa, si un intensificador o silenciador de prueba dado modula en realidad la expresión en una forma específica de célula o tejido. Este enfoque sobre **animales transgénicos** ha demostrado ser útil en el estudio de la expresión génica específica de tejido.

Los genes reporteros se usan para definir intensificadores y otros elementos reguladores que modulan la expresión génica

Al ligar las regiones de DNA que se supone que alberguen secuencias reguladoras para varios genes reporteros (el **enfoque** sobre el **gen reportero** o **quimérico**) (**figuras** 38-10, **38-12** y **38-13**), se puede determinar qué regiones cercanas a la estructura de los genes tienen una influencia en su expresión. Los fragmentos de DNA que se cree albergan elementos reguladores, a menudo identificados mediante alineamientos de secuencia bioinformática, se ligan a un gen reportero adecuado y se introducen en una célula hospedadora (figura 38-12). La expresión del gen reportero aumentará si el DNA contiene un intensificador particular. Por ejemplo, la adición de diferentes hormonas a cultivos separados aumentará la expresión del gen reportero si el DNA contiene un **elemento de DNA de respuesta hormonal** particular **(HRE, *hormone response DNA element*)** (figura 38-13, véase también capítulo 42). La ubicación del elemento puede identificarse mediante el uso progresivo de fragmentos de DNA más cortos, eliminaciones o mutaciones puntuales (figura 38-13).

Esta estrategia, realizada típicamente utilizando células transfectadas en cultivo (es decir, células inducidas para absorber DNA exógenos), ha conducido a la identificación de cientos de intensificadores, silenciadores/represores, tales como elementos específicos de tejido y elementos de respuesta a hormonas, metales pesados y fármacos. La actividad de un gen en cualquier momento refleja la interacción de estos numerosos elementos de DNA que actúan en *cis* con sus respectivos *trans*factores de acción. En general, la

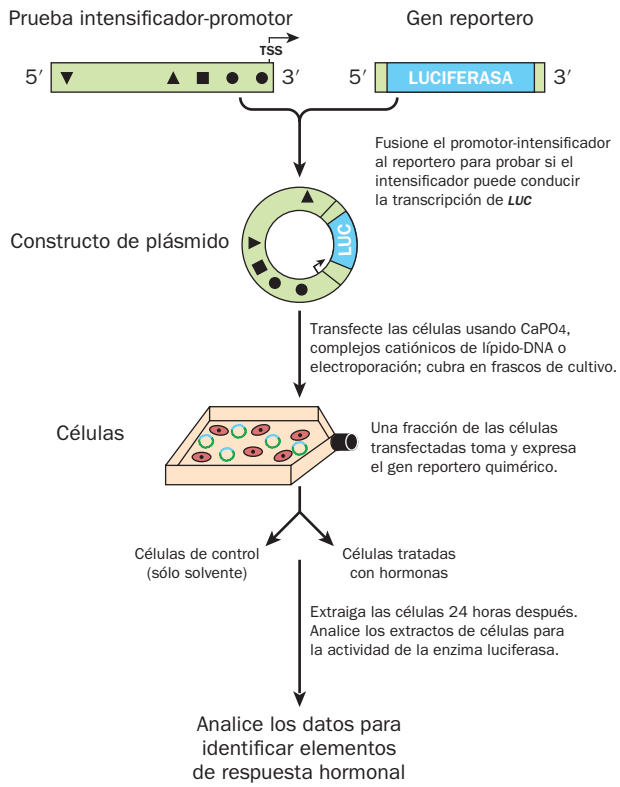


FIGURA 38-12 El uso de genes reporteros para definir elementos reguladores del DNA. Un fragmento de DNA que porta elementos reguladores *cis* (triángulos, cuadrados, círculos en el diagrama) del gen en cuestión (en este ejemplo, casi 2 kb de DNA 5'-flanqueante y el promotor afín) se liga en un vector plásmido que contiene un gen reportero apropiado, en este caso, la enzima luciferasa de la luciérnaga, abreviada LUC. Como se observa en la figura 38-10 en tales experimentos, el reportero no puede estar presente endógenamente en las células transfectadas. Por consiguiente, cualquier detección de estas actividades en un extracto celular significa que la célula fue transfectada con éxito por el plásmido. No se muestra aquí, pero típicamente se cotransfecta un reportero adicional como la Renilla luciferasa para servir como control de la eficacia de la transfección. Las condiciones de análisis para las luciferasas de luciérnaga y Renilla son diferentes, por tanto, las dos actividades se pueden analizar secuencialmente usando el mismo extracto celular. Un aumento de la actividad de la luciferasa de la luciérnaga sobre el nivel basal, por ejemplo, después de la adición de una o más hormonas, significa que la región del DNA insertada en el plásmido del gen reportero contiene elementos funcionales de respuesta hormonal (HRE). Se pueden construir fragmentos de DNA progresivamente más cortos, regiones con supresiones internas o regiones con mutaciones puntuales, y se insertan corriente arriba del gen indicador para identificar el elemento de respuesta (figura 38-13). Una advertencia de este enfoque es que los DNA plasmídicos transfectados lo más probable es que no forman estructuras de cromatina "clásicas".

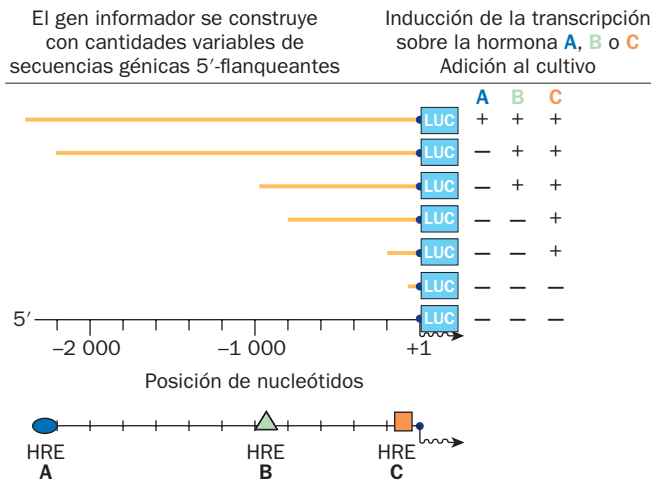


FIGURA 38-13 Mapeo de distintos elementos de respuesta hormonal (HRE) (A), (B) y (C) utilizando el enfoque gen reportero-transfección. Una familia de genes reporteros, construida como se describe en las figuras 38-10 y 38-12, puede transfectarse individualmente en una célula receptora. Al analizar cuándo se pierden ciertas respuestas hormonales en comparación con el punto final 5' de eliminación, se pueden ubicar y definir elementos intensificadores específicos de la respuesta hormonal, en última instancia con precisión a nivel de nucleótidos (véase resumen, abajo).

producción transcripcional está determinada por el equilibrio de la señalización positiva y negativa a la maquinaria de transcripción. El desafío ahora es descubrir cómo se produce esta regulación a nivel molecular, de modo que podamos tener la capacidad de modular terapéuticamente la transcripción génica.

Las combinaciones de elementos del DNA y proteínas asociadas proporcionan respuestas diversas

Los genes procariotas se regulan a menudo de manera intermitente en respuesta a simples señales ambientales. Algunos genes eucariotas están regulados de manera simple, pero el proceso en la mayoría de los genes, especialmente en los mamíferos, es mucho más complicado. Las señales que representan una serie de estímulos ambientales complejos pueden converger en un solo gen. La respuesta del gen a estas señales puede tener varias características fisiológicas. Primero, la respuesta puede extenderse en un rango considerable. Esto se logra teniendo respuestas positivas aditivas y sinérgicas contrapesadas por efectos negativos o represores. En algunos casos, la respuesta positiva o negativa puede ser dominante. También se requiere un mecanismo mediante el cual un efector, como una hormona, pueda activar algunos genes en una célula mientras reprime a unos y no afecta a otros tantos. Cuando todos estos procesos se combinan con factores de elementos específicos de tejido, se proporciona una flexibilidad considerable. Estas variables fisiológicas requieren obviamente una disposición mucho más complicada que un interruptor de encendido y apagado. La recopilación y organización de elementos de DNA en un promotor, especifica, a través de factores asociados, cómo responderá un gen dado y cuánto tiempo se mantiene una respuesta particular. Algunos ejemplos simples se ilustran en la **figura 38-14**.

Los dominios de transcripción se pueden definir por regiones de control de *locus* y aislantes

La gran cantidad de genes en células eucariotas y las complejas series de factores reguladores de la transcripción presentan un pro-

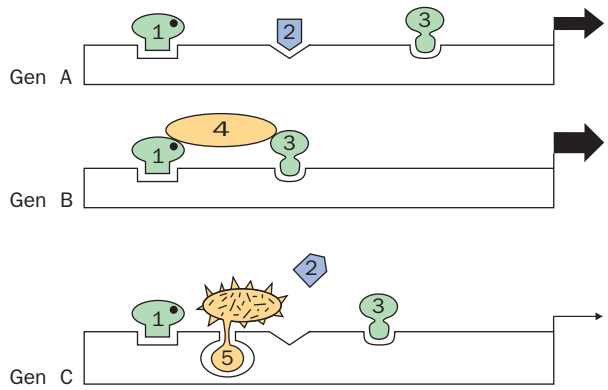


FIGURA 38-14 Las combinaciones de elementos de DNA y proteínas proporcionan diversidad en la respuesta de un gen. El gen A se activa (el ancho de la flecha indica la extensión) mediante la combinación de proteínas activadoras transcripcionales 1, 2 y 3 (con coactivadores, como se muestra en las figuras 36-10 y 38-11). El gen B se activa, en este caso más efectivamente, mediante la combinación de los factores 1, 3 y 4; tenga en cuenta que en este ejemplo el factor de transcripción 4 no entra en contacto directo con el DNA. Los activadores podrían formar un puente lineal que vincula la maquinaria basal con el promotor o, alternativamente, esto podría lograrse mediante un bucle de DNA o una formación de estructura *3D* (es decir, figura 38-11). De todos modos, el objetivo es dirigir la maquinaria de transcripción basal al promotor. El gen C se inactiva mediante la combinación de los factores de transcripción 1, 5 y 3; en este caso, se muestra que el factor 5 impide la unión esencial del factor 2 al DNA, como ocurre en el ejemplo A. Si el activador 1 promueve la unión cooperativa de la proteína represora 5, y si el enlace del activador 1 requiere un ligando (punto sólido), se puede ver cómo el ligando podría activar un gen en una célula (gen A) y reprimir otro (gen C) en la misma célula.

blema organizativo. ¿Por qué algunos genes están disponibles para la transcripción en una célula determinada mientras que otros no? Si los intensificadores pueden regular varios genes a partir de decenas de kilobases de distancia y no dependen de la posición ni de la orientación, ¿cómo se evita que desencadenen la transcripción de todos los genes unidos a *cis* en la vecindad? Parte de la solución a estos problemas se logra al disponer la cromatina en unidades funcionales que restringen los patrones de expresión génica. Esto se puede conseguir haciendo que la cromatina forme una estructura con la matriz nuclear u otra entidad física o compartimento dentro del núcleo. De forma alternativa, algunas regiones están controladas por elementos complejos de DNA llamados **regiones de control de *locus* (LCR,** *locus control regions*). Una LCR, con proteínas unidas asociadas, controla la expresión de un grupo de genes. La LCR mejor definida regula la expresión de la familia de genes de globina en una gran región de DNA. Otro mecanismo es proporcionado por **aisladores**. Estos elementos de DNA, también en asociación con una o más proteínas, evitan que un intensificador actúe sobre un promotor en el otro lado de un aislador en otro dominio de transcripción. Los aisladores sirven así como **elementos de frontera** transcripcionales. En el grupo de genes de globina, y en muchos otros genes, las secuencias intensificadoras y promotoras se ponen en contacto físico mediante eventos específicos de bucle de DNA. Las reglas que controlan tales bucles de cromosomas están actualmente bajo intenso estudio.

CUADRO 38-3 Ejemplos de factores de transcripción que contienen diversos motivos de unión al DNA

Motivo de unión	Organismo	Proteína reguladora
Hélice-giro-hélice	*E. coli* Fago Mamíferos	Represor lac, CAP Represores λcI, cro, y 434 Proteínas de homeobox Pit-1, Oct1, Oct2
Dedo de zinc	*E. coli* Levadura *Drosophila* Xenopus Mamíferos	Proteína del gen 32 Gal4 Serendipia, jorobado TFIIIA Familia de receptores de esteroides, Sp1
Cremallera de leucina	Levadura Mamíferos	GCN4 C/EBP, fos, Jun, Fra-1, proteína de unión a CRE (CREB), c-*myc*, n-*myc*, l-*myc*

VARIOS MOTIVOS COMPONEN LOS DOMINIOS DE UNIÓN AL DNA DE LAS PROTEÍNAS REGULADORAS DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN

La especificidad implicada en el control de la transcripción requiere que las proteínas reguladoras se unan con alta afinidad y especificidad a la región correcta del DNA. Tres motivos únicos, la **hélice-giro-hélice**, el **dedo de zinc** y la **cremallera de leucina**, dan cuenta de muchas de estas interacciones específicas de proteína-DNA. En la cuadro 38-3 se ofrecen ejemplos de proteínas que contienen estos motivos.

La comparación de las actividades de unión de las proteínas que contienen estos motivos conduce a varias generalizaciones importantes.

1. La unión debe ser de alta afinidad para el sitio específico y de baja afinidad para otro DNA.
2. Pequeñas regiones de la proteína entran en contacto directo con el DNA; el resto de la proteína, además de proporcionar los dominios de *trans*activación, puede involucrarse en la dimerización de los monómeros de la proteína de unión, puede proporcionar una superficie de contacto para la formación de heterodímeros, puede proporcionar uno o más sitios de unión a ligandos, o puede proporcionar superficies para interactuar con coactivadores, correpresores o la maquinaria de transcripción.
3. Las interacciones proteína-DNA producidas por estas proteínas se mantienen mediante enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas y fuerzas de Van der Waals.
4. Los motivos encontrados en estas proteínas son específicos de clase; su presencia en una proteína de función desconocida sugiere que la proteína se puede unir al DNA.
5. Las proteínas con los motivos cremallera de leucina, hélice-giro-hélice forman dímeros, y sus sitios de unión de DNA respectivos son palíndromos simétricos. En las proteínas con el motivo del dedo de zinc, el sitio de unión se repite de dos a nueve veces. Estas características permiten interacciones cooperativas

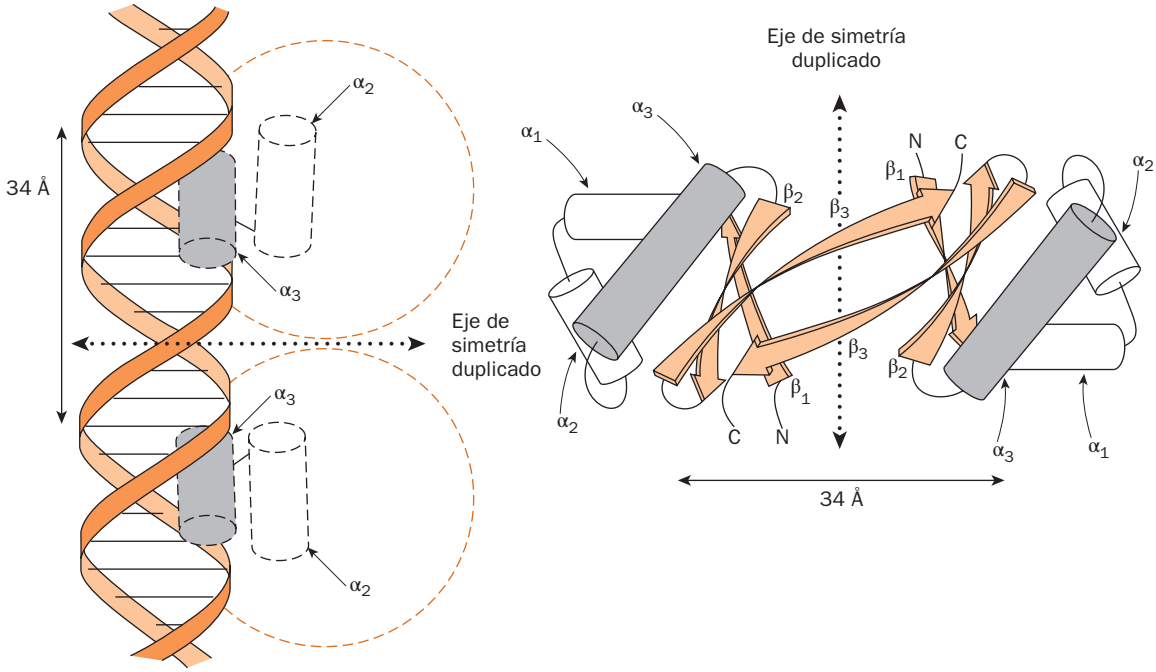


FIGURA 38-15 Una representación esquemática de la estructura 3D de la proteína Cro y su unión al DNA mediante su motivo hélice-giro-hélice (izquierda). El monómero de Cro consta de tres betaláminas antiparalelas (β_1-β_3) y tres alfahélices (α_1-α_3). El motivo hélice-giro-hélice (HTH, *helix-turn-helix*) se forma porque las hélices α_3 y α_2 se mantienen casi a 90° entre sí por un giro de cuatro aminoácidos. La hélice α_3 de Cro es la superficie de reconocimiento del DNA (**sombreada**). Dos monómeros se asocian mediante interacciones entre las dos láminas β_3 antiparalelas para formar un dímero que tiene un doble eje de simetría (**derecha**). Un dímero Cro se une al DNA a través de sus hélices α_3, cada una de las cuales entra en contacto con casi 5 pb en la misma cara de la hendidura mayor (véanse figuras 34-2 y 38-6). La distancia entre puntos comparables en las dos alfahélices de DNA es de 34 Å, la distancia requerida para un giro completo de la doble hélice. (Reimpreso con permiso de B Mathews).

entre sitios de unión y mejoran el grado y la afinidad de la unión.

El motivo hélice-giro-hélice

El primer motivo descrito fue el **hélice-giro-hélice**. El análisis de la estructura tridimensional del regulador de transcripción lambda cro ha revelado que cada monómero consta de tres betaláminas antiparalelas y tres alfahélices (**figura 38-15**). El dímero se forma por asociación de las láminas β_3 antiparalelas. Las hélices α_3 forman la superficie de reconocimiento del DNA, y el resto de la molécula parece estar involucrado en la estabilización de estas estructuras. El diámetro promedio de una alfahélice es de 1.2 nm, que es el ancho aproximado de la hendidura principal en la forma B del DNA.

El dominio de reconocimiento de DNA de cada monómero de Cro interactúa con 5 pb y los sitios de unión al dímero abarcan 3.4 nm, permitiendo el ajuste en sucesivas medias vueltas de la hendidura principal en la misma superficie de DNA (figura 38-15). Los análisis de rayos X del represor λ cI, CAP (la proteína del receptor cAMP de la *E. coli*), el represor del triptófano y el represor del fago 434 muestran esta estructura dimérica de hélice-giro-hélice que está presente también en las proteínas eucariotas de unión al DNA (cuadro 38-3).

El motivo del dedo de zinc

El **dedo de zinc** fue el segundo motivo de unión al DNA cuya estructura atómica fue esclarecida. Se sabía que la proteína TFIIIA, un regulador positivo de la transcripción del gen de 5S RNA, requería zinc para la actividad. Los análisis estructurales y biofísicos revelaron que cada molécula de TFIIIA contiene nueve iones de zinc en un complejo de coordinación repetido formado por restos de cisteína-cisteína estrechamente espaciados seguidos después de 12 a 13 aminoácidos por un par histidina-histidina (**figura 38-16**).

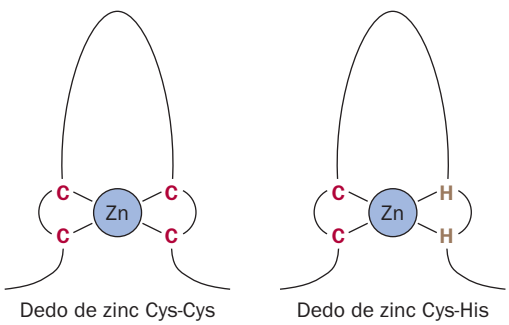


FIGURA 38-16 Los dedos de zinc son una serie de dominios repetidos (dos a nueve) en los que cada uno se centra en una coordinación tetraédrica con zinc. En el caso del factor de transcripción de unión a DNA TFIIIA, la coordinación es proporcionada por un par de residuos de cisteína (C, *cysteine*) separados por 12 a 13 aminoácidos de un par de restos de histidina (H, *histidine*). En otras proteínas con dedos de zinc, el segundo par también consta de residuos de C. Los dedos de zinc se unen en la hendidura principal, con los dedos adyacentes haciendo contacto con 5 pb a lo largo de la misma cara de la hélice.

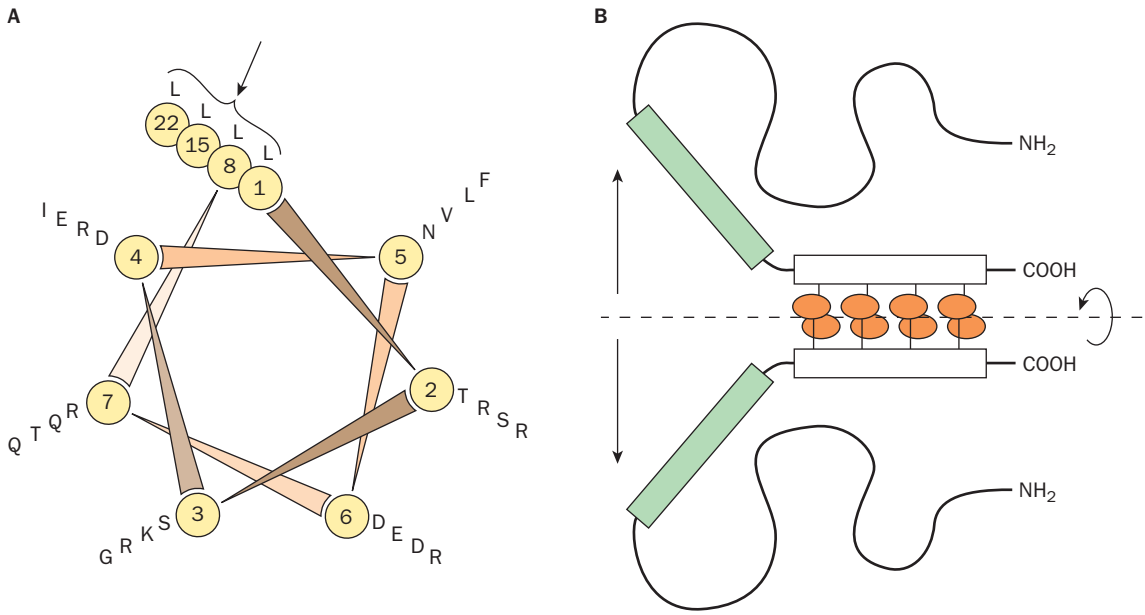


FIGURA 38-17 **El motivo de la cremallera de leucina. A)** Se muestra un análisis de la rueda helicoidal de una porción carboxilo terminal de la proteína de unión al DNA C/EBP (véase cuadro 36-3). La secuencia de aminoácidos se muestra de extremo a extremo en el eje de una alfahélice esquemática (véanse figuras 5-2 a 5-4). La rueda helicoidal consta de siete rayos que corresponden a igual número de aminoácidos que se componen cada dos vueltas de la alfahélice. Tenga en cuenta que los residuos de leucina (L, *leucine*) se producen en cada séptima posición (en este esquema, residuos de aminoácidos de C/EBP 1, 8, 15, 22, véase la flecha). Otras proteínas con "cremalleras de leucina" tienen un patrón de rueda helicoidal similar. **B)** Un modelo esquemático del dominio de unión a DNA de C/EBP. Dos cadenas polipeptídicas idénticas de C/EBP se mantienen en la formación del dímero mediante el dominio de cremallera de leucina de cada polipéptido (indicado por los rectángulos blancos y los óvalos sombreados en naranja). Esta asociación es necesaria para mantener los dominios de unión al DNA de cada polipéptido (los rectángulos sombreados en verde) en la conformación adecuada y registrarse para la unión al DNA. (Reimpreso con permiso de S McKnight).

En algunos casos, particularmente en la familia del receptor de la hormona nuclear esteroidea-tiroidea, el doblete His-His es reemplazado por un segundo par Cys-Cys. Los motivos de dedo de zinc de la proteína están en una cara de la hélice de DNA, con los dedos sucesivos posicionados alternativamente en una vuelta en la hendidura principal. Como sucede con el dominio de reconocimiento en la proteína hélice-giro-hélice, cada dedo de zinc TFIIIA contacta con casi 5 pb de DNA. La importancia de este motivo en la acción de las hormonas esteroideas se ve subrayada por un "experimento de la naturaleza". Una sola mutación de aminoácido en cualquiera de los dos dedos de zinc de la proteína del receptor 1.25 (OH) 2-D3 provoca resistencia a la acción de esta hormona y el síndrome clínico de raquitismo.

El motivo de cremallera de leucina

El análisis de una secuencia de 30 aminoácidos en la región carboxilo terminal de la proteína de unión al intensificador C/EBP reveló una nueva estructura, **el motivo de cremallera de leucina**. Como se ilustra en la **figura 38-17**, esta región de la proteína forma una alfahélice en la que hay una repetición periódica de restos de leucina en cada séptima posición. Esto ocurre durante ocho vueltas helicoidales y cuatro repeticiones de leucina. Se han encontrado estructuras similares en varias otras proteínas asociadas con la regulación de la transcripción en todos los eucariotas examinados. Esta estructura permite que dos monómeros idénticos o no idénticos (p. ej., Jun-Jun o Fos-Jun) se "unan mutuamente" en una espiral enrollada y formen un complejo dímero apretado (figura 38-17). Esta interacción proteína-proteína sirve para mejorar la asociación de los DBD separados con sus sitios blanco de DNA (figura 38-17).

LOS DOMINIOS DE UNIÓN Y TRANSACTIVACIÓN DEL DNA DE LA MAYORÍA DE LAS PROTEÍNAS REGULADORAS ESTÁN SEPARADOS

La unión al DNA podría dar como resultado un cambio conformacional general que permite a la proteína unida activar la transcripción, estas dos funciones podrían ser atendidas de forma alternativa por dominios separados e independientes. Los experimentos de intercambio de dominio sugieren que este último suele ser el caso.

El producto del gen *GAL1* está involucrado en el metabolismo de la galactosa en la levadura. La transcripción de este gen está regulada positivamente por la proteína Gal4, que se une a una secuencia activadora corriente arriba (UAS, *upstream activator sequence*), o intensificador, a través de un **DBD** amino terminal. Para examinar sistemáticamente las contribuciones de Gal4 AD y DBD a la activación de la transcripción del gen GAL1, se realizó una serie de experimentos de intercambio de dominio (**figura 38-18**). El amino terminal 73 de DBD y de aminoácidos de Gal4 se eliminó y se reemplazó con el DBD de LexA, una proteína de unión a DNA de *E. coli*. Este cambio de dominio dio como resultado una molécula que no se unió al *GAL1* UAS y, por supuesto, no activó el gen

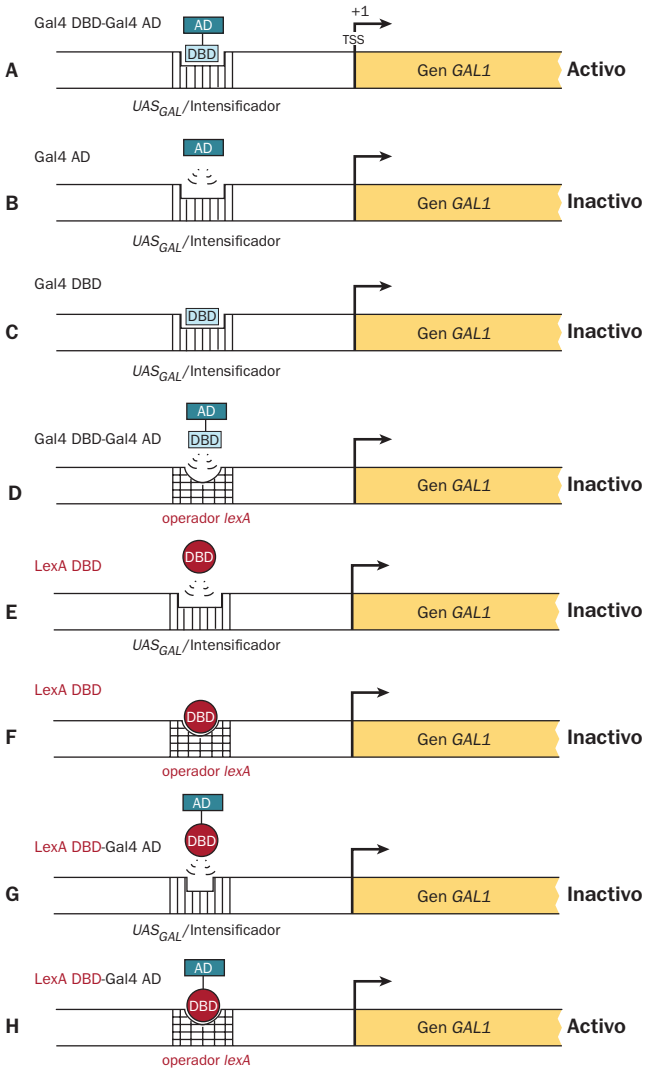


FIGURA 38-18 Los experimentos de intercambio de dominio demuestran la naturaleza independiente de los dominios de activación de transcripción y unión al DNA. El gen *GAL1* de la levadura contiene una secuencia de activación corriente arriba/intensificador (UASGAL/Enhancer) que está unida por la proteína Gal4 activadora de la transcripción reguladora de unión a DNA multidominio. La Gal4, al igual que la proteína lambda cI, es modular y contiene un dominio de unión al DNA N-terminal (DBD) y un dominio de activación C-terminal (AD). Cuando el factor de transcripción intacto de Gal4 se une al intensificador GAL1 UASGAL, se produce la activación de la transcripción del gen GAL1 [(A); activo]. Los experimentos de control demuestran que los tres componentes específicos del gen *GAL1* (es decir, componentes activos *cis* y *trans*: intensificador UASGAL DNA, Gal4 DBD y Gal4 AD) son necesarios para la transcripción activa del gen *GAL1* natural, como se esperaba [(B), (C), (D), (E), (F), todos inactivos]. Una proteína quimérica, en la que el DBD de Gal4 se reemplaza con el DBD de la proteína de unión al DNA del operador específico de la *E. coli* LexA no puede estimular la transcripción de *GAL1* porque el DBD de LexA no se puede unir al intensificador UASGAL [(G); inactivo]. Por el contrario, la proteína de fusión LexA DBD-Gal4 AD activa la transcripción de *GAL1* cuando el operador lexA (el objetivo natural para el DBD *LexA*) se inserta en la región promotora de *GAL1*, reemplazando al intensificador UASGAL normal [(H); activo].

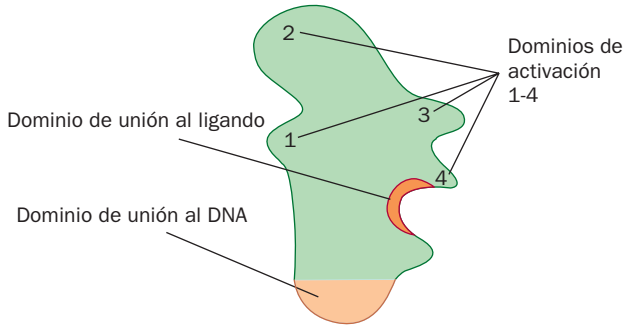


FIGURA 38-19 Las proteínas que regulan la transcripción tienen varios dominios. Este factor de transcripción hipotético tiene un DBD diferente a un dominio de unión a ligando (LBD, *ligand-binding domain*) y varios dominios de activación (AD) (1-4). Otras proteínas pueden carecer de DBD o LBD y todas pueden tener números variables de dominios que entren en contacto con otras proteínas, incluyendo los correguladores y los del complejo de transcripción basal (véanse también capítulos 41 y 42).

GAL1 (figura 38-18). No obstante, si el operador de *lexA*, la secuencia de DNA normalmente unida por el DBD de LexA, se insertó en la región promotora del gen *GAL* para reemplazar al intensificador normal de *GAL1*, la proteína híbrida se unió a este promotor (en el operador sustituido de *lexA*) y activó la transcripción de *GAL1*. Este experimento general se ha repetido muchas veces con diferentes DBD heterólogos. Los resultados demuestran que la región carboxilo terminal de Gal4 contiene un **dominio de activación** transcripcional, o **AD** (*activation domain*). Estos datos también demuestran que DBD y AD pueden funcionar de forma independiente. La jerarquía involucrada en el ensamblaje de complejos activadores de la transcripción genética incluye proteínas que unen el DNA y transactivan; otros que forman complejos proteína-proteína que conectan proteínas de unión al DNA a proteínas de transactivación; y otros que forman complejos proteína-proteína con componentes de correguladores o el aparato de transcripción basal. Una proteína dada puede tener así varias superficies modulares o dominios que sirven a diferentes funciones (**figura 38-19**). (No se muestra aquí, pero las proteínas represoras de unión a DNA están organizadas de manera similar con DBD separables y **dominios de silenciamiento** (**SD**, *silencing domains*). Como se describió en el capítulo 36, el propósito principal de estas moléculas es facilitar el ensamblaje y/o la actividad del aparato de transcripción basal en el promotor unido a *cis*.

CUADRO 38-4 La expresión génica está regulada por transcripción y muchas otras formas en células eucariotas

- Amplificación génica
- Reorganización génica
- Procesamiento de RNA
- Ensamblaje alterno de mRNA
- Transporte de mRNA del núcleo al citoplasma
- Regulación de la estabilidad del mRNA
- Compartimentación
- Silenciamiento y activación del ncRNA

LA REGULACIÓN GENÉTICA EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS DIFIERE EN OTROS ASPECTOS IMPORTANTES

Además de la transcripción, las células eucariotas emplean una variedad de mecanismos para regular la expresión génica (cuadro 38-4). Se implican muchos más pasos, especialmente en el procesamiento de RNA, en la expresión de genes eucariotas que en la de genes procariotas, y estos pasos proporcionan sitios adicionales para influencias reguladoras que no pueden existir en procariotas. Estos pasos de procesamiento de RNA en eucariotas, descritos en detalle en el capítulo 36, incluyen la cobertura de los extremos 5' de los transcritos primarios, la adición de una cola poliadenilada a los extremos 3' de los transcritos y la escisión de las regiones intrónicas para generar exones ensamblados en la molécula de mRNA madura. Hasta la fecha, los análisis de expresión de genes eucariotas proporcionan pruebas de que la regulación se produce a nivel de transcripción, procesamiento de RNA nuclear, transporte nuclear, estabilidad del mRNA y traducción. Además, la amplificación y la reorganización de genes influyen en la expresión génica.

Debido al advenimiento de la tecnología de DNA recombinante y la secuenciación de DNA y RNA de alto rendimiento y otras herramientas genéticas (véase capítulo 39), se ha avanzado mucho en los últimos años en nuestra comprensión de la expresión génica eucariota. Sin embargo, debido a que la mayoría de los organismos eucariotas contienen mucha más información genética que los procariotas y porque la manipulación de sus genes es más difícil, los aspectos moleculares de la regulación de genes eucariotas son menos conocidos que los ejemplos antes discutidos en este capítulo. Esta sección describe brevemente algunos tipos diferentes de regulación de genes eucariotas.

Los ncRNA modulan la expresión génica alterando la función del mRNA

Como se señaló en el capítulo 35, la clase recientemente descubierta de ncRNA codificantes eucariotas, no proteicos, ubicuos, grandes y pequeños, contribuye de manera importante al control de la expresión génica. El mecanismo de acción de los pequeños miRNA y siRNA se comprende mejor. Estos ~22 nucleótidos de RNA regulan la función/expresión de mRNA específicos inhibiendo la traducción o induciendo la degradación del mRNA a través de diferentes mecanismos; en muy pocos casos, se ha demostrado que los miRNA estimulan la función del mRNA. Se cree que al menos una parte de la modulación dirigida por miRNA de la actividad de mRNA ocurre en el **cuerpo P** (véase figura 37-11). La acción de miRNA puede producir cambios drásticos en la producción de proteínas y, por tanto, en la expresión génica. Estos ncRNA pequeños se han visto implicados en numerosas enfermedades humanas, como enfermedades del corazón, cáncer, desgaste muscular, infección viral y diabetes.

Los miRNA y los siRNA, al igual que los factores de transcripción de unión al DNA antes descritos en detalle, son transactivos, y una vez sintetizados y procesados apropiadamente, interactúan con proteínas específicas y se unen a los mRNA blanco (véase figura 36-17). La unión de los miRNA a los blancos mRNA está dirigida por las reglas normales de emparejamiento de bases. En general, si el emparejamiento de bases miRNA-mRNA tiene una o más desigualdades, se inhibe la traducción del mRNA "blanco" afín, mientras que si el emparejamiento de bases miRNA-mRNA es perfecto sobre los 22 nucleótidos, el mRNA correspondiente se degrada.

Dada la enorme y creciente importancia de los miRNA, muchos científicos y compañías de biotecnología están estudiando activamente la biogénesis, el transporte y la función de miRNA con la esperanza de curar las enfermedades humanas. El tiempo dirá la magnitud y la universalidad de la regulación de genes mediada por ncRNA.

Los genes eucariotas pueden amplificarse o reorganizarse durante el desarrollo o en respuesta a los fármacos

Durante el desarrollo temprano de los organismos pluricelulares, hay un aumento abrupto en la necesidad de moléculas específicas, tales como moléculas de RNA ribosómico y de RNA mensajero para proteínas que conforman tipos de células o tejidos específicos. Una forma de aumentar la velocidad a la que se pueden formar tales moléculas es incrementar el número de genes disponibles para la transcripción de estas moléculas específicas. Entre las secuencias repetitivas de DNA dentro del genoma se encuentran cientos de copias de genes de RNA ribosómico. Estos genes preexisten repetitivamente en el DNA de los gametos y, por tanto, se transmiten en grandes cantidades de copias de generación en generación. En algunos organismos específicos, como la mosca de la fruta (*Drosophila*), se produce una amplificación de algunos genes preexistentes durante la ovogénesis, como los de las proteínas de corion (cáscara de huevo). Luego, estos genes amplificados, presumiblemente generados por un proceso de iniciaciones repetidas durante la síntesis de DNA, proporcionan múltiples sitios para la transcripción génica (figuras 36-4 y **38-20**). El lado oscuro de la amplificación génica específica es el hecho de que en las células cancerígenas humanas puede desarrollarse resistencia a los fármacos tras un tratamiento terapéutico prolongado, debido a la amplificación y expresión aumentada de genes, los cuales codifican proteínas que degradan o bombean fármacos de las células blanco.

Como se señaló en el capítulo 36, las secuencias de codificación responsables de la generación de moléculas de proteína específicas no son frecuentemente contiguas en el genoma del mamífero. En el caso de genes que codifican anticuerpos, esto es particularmente cierto. Como se describe en detalle en el capítulo 52, las inmunoglobulinas están compuestas por dos polipéptidos, las denomina-

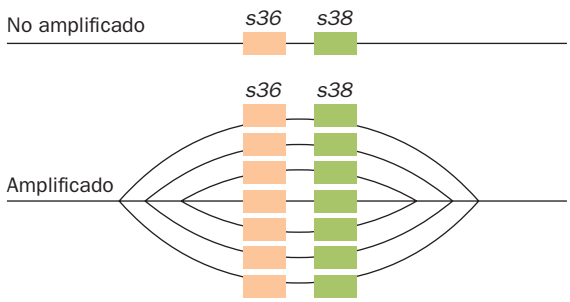


FIGURA 38-20 Representación esquemática de la amplificación de los genes *s36* y *s38* de la proteína de corion. (Reproducido con permiso de Chisholm R. Gene amplification during development. *Trends Biochem Sci* 1982;7:161. Copyright © 1982. Reimpreso con permiso de Elsevier).

das cadenas pesadas (casi 50 kDa) y ligera (alrededor de 25 kDa). Los mRNA que codifican estas dos subunidades de proteína están codificados por secuencias génicas que están sujetas a cambios extensivos de codificación de secuencia de DNA. Estos son esenciales para generar la diversidad de reconocimiento requerida, fundamental para la función inmune apropiada.

Los mRNA de la cadena pesada y ligera de IgG están codificados por varios segmentos diferentes que se repiten en tándem en la línea germinal. Así, por ejemplo, la cadena ligera de IgG consiste en dominios o segmentos variables (V_L, *variable*), de unión (J_L, *joining*) y constantes (C_L, *constant*). Para subconjuntos particulares de cadenas ligeras de IgG, hay casi 300 segmentos de codificación génica V_L repetidos en tándem, 5 secuencias de codificación J_L dispuestas en tándem, y cerca de 10 segmentos de codificación génica C_L. Todas estas secuencias de codificación múltiples y distintas están ubicadas en la misma región del mismo cromosoma, y cada tipo de segmento de codificación (V_L, J_L y C_L) se repite en tándem en la forma de cabeza a cola dentro de la región de repetición del segmento. Al tener múltiples segmentos V_L, J_L y C_L para elegir, una célula inmune tiene un mayor repertorio de secuencias con las que trabajar para desarrollar flexibilidad y especificidad inmunológicas. Sin embargo, una unidad de transcripción de cadena ligera de IgG funcional dada, como todas las demás unidades de transcripción de mamíferos "normales", contiene sólo las secuencias de codificación para una única proteína. Por tanto, antes de que una cadena ligera de IgG particular pueda expresarse, las secuencias codificantes V_L, J_L y C_L *únicas* deben recombinarse para generar una *única* unidad de transcripción contigua excluyendo los múltiples segmentos no unificados (es decir, aproximadamente los otros 300 segmentos V_L no utilizados, los otros 4 segmentos J_L no utilizados y los otros 9 segmentos C_L no utilizados). Esta eliminación de información genética no utilizada se lleva a cabo mediante una recombinación selectiva del DNA que elimina el DNA codificante no deseado mientras se retienen las secuencias codificantes requeridas: una secuencia V_L, una J_L y una C_L. (Las secuencias V_L se someten a mutagénesis puntual adicional para generar aún más variabilidad, de ahí el nombre). Las secuencias recientemente recombinadas forman así una unidad de transcripción única que es competente para la transcripción mediada por RNA polimerasa II en un único mRNA monocistrónico. Aunque los genes de IgG representan uno de los casos mejor estudiados de la expresión génica moduladora de la reorganización del DNA dirigido, se han descrito otros casos de reorganización reguladora génica del DNA.

El procesamiento alternativo de RNA es otro mecanismo de control

Además de afectar la eficacia de la utilización del promotor, las células eucariotas emplean un procesamiento alternativo de RNA para controlar la expresión génica. Esto puede resultar cuando se usan promotores alternativos, sitios de ensamblaje de intrón-exón o sitios de poliadenilación. En ocasiones, se produce una heterogeneidad dentro de una célula, pero más frecuentemente el mismo transcrito primario se procesa de manera diferente en distintos tejidos. A continuación se presentan algunos ejemplos de cada uno de estos tipos de regulación.

El uso de **sitios de inicio alternativos de transcripción** da como resultado un exón 5' diferente en los mRNA que codifican la cadena ligera de amilasa y miosina del ratón, la glucoquinasa de rata, la alcohol deshidrogenasa y la actina de la *Drosophila*. Los **sitios alternativos de poliadenilación** en el transcrito primario de cadena pesada de inmunoglobulina μ dan como resultado mRNA que tienen 2 700 bases de longitud (μ_m) o 2 400 bases de longitud (μ_s). Esto da como resultado una región carboxilo terminal diferente de las proteínas codificadas, de manera que la proteína μ_m permanece unida a la membrana del linfocito B y la inmunoglobulina μ_s se secreta. **El ensamblaje y el procesamiento alternativos** dan como resultado la formación de siete mRNA de tropomiosina α únicos en siete tejidos diferentes. Todavía no se entiende a cabalidad cómo se toman estas decisiones de procesamiento-ensamblaje o cómo se pueden regular exactamente estos pasos.

La regulación de la estabilidad del RNA mensajero proporciona otro mecanismo de control

Aunque la mayoría de los mRNA en las células de mamíferos son muy estables (vidas medias medidas en horas), algunos se renuevan muy rápidamente (vidas medias de 10-30 minutos). En ciertos casos, la estabilidad del mRNA está sujeta a regulación. Esto tiene implicaciones importantes ya que habitualmente existe una relación directa entre la cantidad de mRNA y la traducción de ese mRNA en su proteína afín. Por tanto, los cambios en la estabilidad de un mRNA específico pueden tener efectos importantes en los procesos biológicos.

Los RNA mensajeros existen en el citoplasma como **partículas de ribonucleoproteína** (**RNP**, *ribonucleoprotein particles*). Algunas

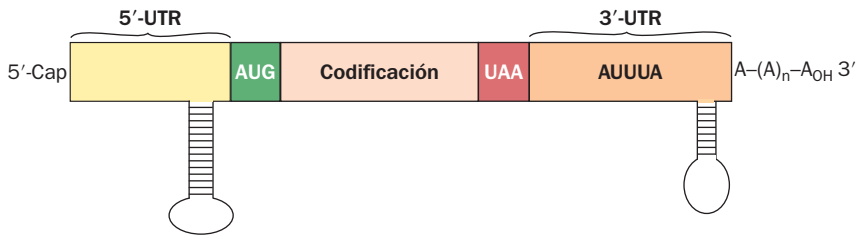


FIGURA 38-21 Estructura de un mRNA eucariota típico que muestra los elementos que están implicados en la regulación de la estabilidad del mRNA. El mRNA eucariota típico tiene una secuencia 5' no codificante (NCS, *noncoding sequence*), o una región exónica no traducida (5' UTR), una región codificante y una región NCS no traducida 3'- exónica (3' UTR). Esencialmente todos los mRNA están cubiertos en el extremo 5', y la mayoría tiene una secuencia de poliadenilato de 100 a 200 nt en su extremo 3'. La cubierta 5' y la cola 3' poli (A) protegen el mRNA contra el ataque de las exonucleasas y están unidas por proteínas específicas que interactúan para facilitar la traducción (véase figura 37-7). Se cree que las estructuras de bucle en las 5' y 3' NCS, y la región rica en AU en la 3' NCS representan los sitios de unión para proteínas específicas que modulan la estabilidad del mRNA.

de estas proteínas protegen el mRNA de la digestión mediante nucleasas, mientras que otras bajo ciertas condiciones pueden estimular el ataque de nucleasas. Se cree que los mRNA se estabilizan o se desestabilizan por la interacción de proteínas con estas estructuras o secuencias diversas. Ciertos efectores, como las hormonas, pueden regular la estabilidad del mRNA aumentando o disminuyendo la cantidad de estas proteínas de unión a mRNA.

Se sabe que los extremos de las moléculas de mRNA están implicados en la estabilidad del mRNA (**figura 38-21**). La estructura de 5'-cap en el mRNA eucariota evita el ataque de las exonucleasas 5', y la cola de poli (A) prohíbe la acción de las exonucleasas 3'. En las moléculas de mRNA con esas estructuras, se presume que un solo corte endonucleolítico permite que las exonucleasas ataquen y digieran toda la molécula. Se cree que otras estructuras (secuencias) en la región 5' no traducida (5' UTR), la región codificante y la 3 'UTR estimulan o evitan esta acción endonucleolítica inicial (figura 38-21). Gran parte de este metabolismo del mRNA quizá se produce en los cuerpos P citoplasmáticos.

Por consiguiente, está claro que se emplean varios mecanismos para regular la estabilidad del mRNA y, por tanto, su función, del mismo modo que se usan mecanismos secundarios para regular la síntesis del mRNA. La regulación coordinada de estos dos procesos confiere a la célula una adaptabilidad notable.

RESUMEN

- Las constituciones genéticas de las células somáticas de organismos pluricelulares son casi todas idénticas.
- El fenotipo (especificidad tisular o celular) está dictado por diferencias en la expresión génica del complemento celular de los genes.
- Las alteraciones en la expresión génica permiten que una célula se adapte a los cambios ambientales, las señales de desarrollo y las señales fisiológicas.
- La expresión génica puede controlarse en múltiples niveles mediante cambios en la transcripción, el procesamiento del mRNA, la localización y la estabilidad o la traducción. La amplificación de genes y los reordenamientos también influyen en la expresión génica.
- Los controles de transcripción operan al nivel de las interacciones proteína-DNA y proteína-proteína. Estas interacciones muestran una modularidad de dominio de proteínas y alta especificidad.
- Se han identificado varias clases diferentes de DBD en factores de transcripción.
- Las modificaciones de la cromatina y el DNA contribuyen de manera importante al control de la transcripción eucariota mediante la modulación de la accesibilidad del DNA y la especificación del reclutamiento de coactivadores y correpresores específicos para los genes blanco.
- Se han descrito varios mecanismos epigenéticos para el control de genes y se están esclareciendo a nivel molecular los mecanismos moleculares a través de los cuales operan estos procesos.
- Los ncRNA modulan la expresión génica. Los miRNA y los siRNA cortos modulan la traducción y la estabilidad del mRNA.

REFERENCIAS

Ambrosi C, Manzo M, Baubec T. Dynamics and context-dependent roles of DNA methylation. *J Mol Biol* 2017;429(10):1459-1475.

Browning DF, Busby SJ. Local and global regulation of transcription inititiation in bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:638-650.

Dekker J, Mirny L. The 3D genome as moderator of chromosomal communication. *Cell* 2016;164:1110-1121.

Jacob F, Monod J. Genetic regulatory mechanisms in protein synthesis. *J Mol Biol* 1961;3:318-356.

Klug A. The discovery of zinc fingers and their applications in gene regulation and genome manipulation. *Annu Rev Biochem* 2010;79:-213-231.

Lemon B, Tjian R. Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. *Genes Dev* 2000;14:2551-2569.

Lee TI, Young RA. Transcriptional regulation and its misregulation in disease. *Cell* 2013;152:1237-1251.

Manning KS, Cooper TA. The roles of RNA processing in translating genotype to phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18:102-114.

Ptashne M. *A Genetic Switch*. 2nd ed. Cell Press and Blackwell Scientific Publications; 1992.

Pugh BF. A preoccupied position on nucleosomes. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17:923.

Roeder RG. Transcriptional regulation and the role of diverse coactivators in animal cells. *FEBS Lett* 2005;579:909-915.

Schmitt AM, Chang HY. Long noncoding RNAs in cancer pathways. *Cancer Cell* 2016;29:452-463.

Schwartzman O, Tanay A. Single-cell epigenomics: techniques and emerging applications. *Nat Rev Genet* 2015;16:716-726.

Scotti MM, Swanson MS. RNA mis-splicing in disease. *Nat Rev Genet* 2016;17:19-32.

Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011;469:336-342.

Tee WW, Reinberg D. Chromatin features and the epigenetic regulation of pluripotency states in ESCs. *Development* 2014;141:2376-2390.

Tian B, Manley JL. Alternative polyadenylation of mRNA precursors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18:18-30.

Zaborowska J, Egloff S, Murphy S. The pol II CTD: new twists in the tail. *Nat Struct Mol Biol* 2016;23:771-777.

Zhang, Q Lenardo MJ, Baltimore, D. 30 years of NF-KB: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell* 2017;168:37-57.

CAPÍTULO 39

Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comprender los procedimientos y métodos básicos involucrados en la tecnología del DNA recombinante y la ingeniería genética.
- Entender la razón de los métodos utilizados para sintetizar, analizar y secuenciar DNA y RNA.
- Describir cómo identificar y cuantificar proteínas individuales, tanto solubles como insolubles (es decir, proteínas unidas a la membrana o compartimentadas desde el punto de vista intracelular), así como proteínas unidas a secuencias específicas de DNA o RNA genómico.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

El desarrollo de técnicas de DNA recombinante, microarrays de DNA de alta densidad, detección de alto rendimiento, secuenciación de DNA y RNA a escala genómica de bajo costo y otras metodologías genéticas moleculares ha revolucionado la biología y está teniendo un impacto creciente en la medicina clínica. Aunque se ha aprendido bastante acerca de la enfermedad genética humana, a partir del análisis genealógico y el estudio de las proteínas afectadas, estos enfoques no se pueden utilizar en muchos casos en los que se desconoce el defecto genético específico. Las nuevas tecnologías sortean estas limitaciones, al ir directamente a las moléculas de DNA y RNA celulares para obtener información. La manipulación de una secuencia de DNA y la construcción de moléculas quiméricas, la llamada ingeniería genética, proporcionan un medio para estudiar cómo un segmento específico del DNA controla la función celular. Las nuevas herramientas genéticas bioquímicas y moleculares permiten a los investigadores consultar y manipular secuencias genómicas, así como examinar todo el complemento del estado del RNA celular, la proteína y el estatus PTM proteínico a nivel molecular, incluso en células individuales.

Comprender la tecnología de la genética molecular es importante por varias razones: 1) ofrece un enfoque racional para comprender las bases moleculares de la enfermedad (p. ej., hipercolesterolemia familiar, enfermedad de células falciformes, talasemias, fibrosis quística, distrofia muscular, así como enfermedades multifactoriales más complejas como enfermedades vasculares y cardiacas, enfermedad de Alzheimer, cáncer, obesidad y diabetes), 2) las proteínas humanas se pueden producir en abundancia para la terapia (p. ej., insulina, hormona del crecimiento, activador del plasminógeno tisular), 3) se pueden obtener con facilidad proteínas para la preparación de vacunas (p. ej., hepatitis B) y para pruebas de diagnóstico (p. ej., pruebas de Ébola y AIDS), 4) esta tecnología se usa tanto para diagnosticar enfermedades existentes, como para predecir el riesgo de desarrollar una enfermedad determinada y la respuesta individual a terapias farmacológicas, también llamada **medicina personalizada**, 5) las técnicas especiales han llevado a notables avances en la medicina forense, que han permitido el análisis diagnóstico molecular del DNA a partir de células individuales, 6) finalmente, en enfermedades muy bien entendidas, se puede idear una terapia genética potencialmente curativa para padecimientos causados por deficiencia de un solo gen, como la enfermedad de células falciformes, las talasemias, la deficiencia de adenosina desaminasa y otras.

LA TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE IMPLICA AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DEL DNA PARA REALIZAR MOLÉCULAS QUIMÉRICAS

El aislamiento y manipulación del DNA, incluida la unión término-terminal de secuencias de fuentes muy diferentes para formar moléculas quiméricas (p. ej., moléculas que contienen secuencias de DNA tanto humanas como bacterianas de un modo independiente de secuencia), es la esencia de la investigación del DNA recombinante. Esto conlleva varios reactivos y técnicas únicas.

* Véase el glosario de términos al final del capítulo.

Las enzimas de restricción rompen las cadenas de DNA en lugares específicos

Ciertas endonucleasas, enzimas que cortan el DNA en secuencias de DNA específicas dentro de la molécula, (en contraposición con las exonucleasas, que digieren desde los extremos de las moléculas de DNA, en una forma de secuencia independiente) son una herramienta clave en la investigación de DNA recombinante. Estas enzimas se denominaron **enzimas de restricción**, o **RE** (*restriction enzymes*), debido a que su presencia en una bacteria determinada restringe o impide el crecimiento de ciertos virus bacterianos llamados bacteriófagos. Las enzimas de restricción cortan el DNA de cualquier fuente en trozos únicos y cortos de una manera específica de secuencia, en contraste con la mayoría de otros métodos enzimáticos, químicos o físicos, que rompen el DNA al azar. Estas enzimas defensivas (se han descubierto cientos) protegen el DNA de la bacteria huésped del genoma del DNA de organismos extraños (sobre todo fagos infecciosos) mediante la inactivación específica del DNA del fago invasor por digestión. El sistema de interferón inducible por RNA viral (véase capítulo 38; figura 38-11) proporciona el mismo tipo de defensa molecular contra los virus de RNA en células de mamíferos. Sin embargo, las endonucleasas de restricción están presentes sólo en células que también tienen una enzima acompañante que metila específicamente en el sitio el DNA del huésped bacteriano, por lo que no puede ser escindido por esa enzima de restricción particular. Por consiguiente, las metilasas de secuencia específica de DNA y las endonucleasas de restricción de secuencia específica que se dirigen a los mismos sitios exactos siempre existen en pares en una bacteria dada.

Las enzimas de restricción llevan el nombre de la bacteria de la cual se aíslan. Por ejemplo, *EcoRI* es de *Escherichia coli*, y *BamHI* es de *Bacillus amyloliquefaciens* (**cuadro 39-1**). En el caso del nombre de la enzima de restricción EcoRI, derivado de *E. coli* cepa R, las tres primeras letras consisten en la primera letra del género (*E*) y las dos primeras letras de la especie (*co*). Estas designaciones pueden ir seguidas de una designación de la cepa (*R*) y un número romano (*I*), para indicar el orden de descubrimiento (p. ej., *EcoRI* y *EcoRII*). Cada enzima reconoce y escinde una secuencia específica de DNA de doble hebra que suele tener una longitud de 4 a 8 bp. De estos cortes de DNA se obtienen **extremos romos** (p. ej., *HpaI*) o superpuestos (**pegajosos o cohesivos**) (p. ej., *BamHI*) (**figura 39-1**), dependiendo del mecanismo utilizado por la enzima. Los extremos pegajosos son particularmente útiles en la construcción de moléculas de DNA híbridas o quiméricas (véase a continuación). Si los cuatro nucleótidos se distribuyen de manera aleatoria en una molécula de DNA determinada, se puede calcular con qué frecuencia una enzima en particular reducirá una longitud de DNA. Para cada posición en la molécula de DNA, hay cuatro posibilidades (A, C, G y T); por tanto, una enzima de restricción que reconoce una secuencia de 4 bp corta el DNA, como promedio, una vez cada 256 bp (4^4), mientras que otra enzima que reconoce una secuencia de 6 bp corta una vez cada 4 096 bp (4^6). Una parte dada de DNA tiene una matriz lineal característica de sitios para las diversas enzimas dictadas por la secuencia lineal de sus bases; de modo que, se puede construir un **mapa de restricción**. Cuando el DNA se digiere con una enzima particular, los extremos de todos los fragmentos tienen la misma secuencia de DNA. Los fragmentos producidos se pueden aislar por electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida (véase discusión sobre electrotransferencia, a continuación); este es un paso esencial en la clonación del DNA, así como en diversos análisis de DNA, y también un importante uso de estas enzimas.

CUADRO 39-1 Endonucleasas de restricción seleccionadas y sus especificidades de secuencia

Endonucleasa	Se muestran sitios de corte reconocidos por secuencia	Fuente bacteriana
BamHI	↓ G GATCC CCTAC C ↑	*Bacillus amyloliquefaciens H*
BglII	↓ A TCTAG A GATCT A ↑	*Bacillus globigii*
EcoRI	↓ G AATTC CTTAA C ↑	*Escherichia coli RY13*
EcoRII	↓ CCTGG GGACC ↑	*Escherichia coli R245*
HindIII	↓ A AGCTT TTCGA A ↑	*Haemophilus influenzae* R_d
HhaI	↓ GCG C C GCG ↑	*Haemophilus haemolyticus*
HpaI	↓ GTT AAC CAA TTC ↑	*Haemophilus Parainfluenza*
MstII	↓ CC TnAGG GGAnT CC ↑	*Cepa de Microcoleus*
PstI	↓ CTGCA G G ACGTC ↑	*Providencia stuartii 164*
TaqI	↓ T CGA AGC T ↑	*Thermus aquaticus YTI*

Abreviaturas: A, adenina; C, citosina; G, guanina, T, timina. Las flechas muestran el sitio del corte; dependiendo del sitio, los extremos del DNA de doble hebra escindido resultantes se denominan extremos pegajosos (*BamHI*) o extremos romos (*HpaI*). La longitud de la secuencia de reconocimiento puede ser de 4 bp (*TaqI*), 5 bp (*EcoRII*), 6 bp (*EcoRI*) o 7 bp (*MstII*) o más. Por convención, estas se escriben en la dirección 5′ a 3′ para la hebra superior de cada secuencia de reconocimiento, y la hebra inferior se muestra con la polaridad opuesta (es decir, 3′-5′). Tenga en cuenta que la mayoría de las secuencias de reconocimiento son palíndromos (o sea, la secuencia lee lo mismo en direcciones opuestas en las dos hebras). Un residuo designado n significa que se permite cualquier nucleótido.

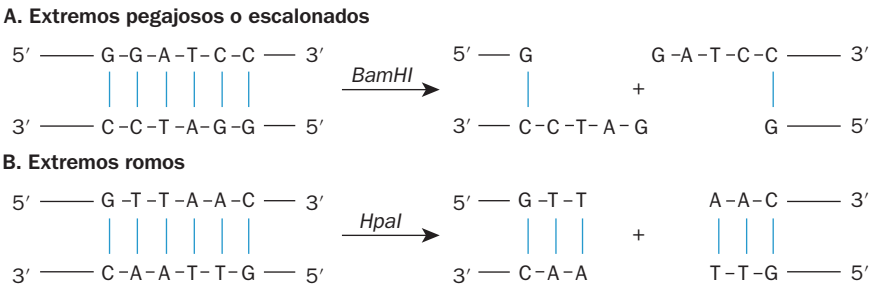


FIGURA 39-1 Resultados de la digestión con endonucleasas de restricción. La digestión con una endonucleasa de restricción puede dar como resultado la formación de fragmentos de DNA con extremos pegajosos, o cohesivos, (A) o extremos romos (B); esqueleto de fosfodiéster, líneas negras; enlaces de hidrógeno interhebras entre las bases de purina y pirimidina, azul. La generación de fragmentos cuyos extremos tienen estructuras particulares (es decir, romo, cohesivo) es una consideración importante al diseñar estrategias de clonación.

Otras enzimas que actúan sobre el DNA y el RNA son una parte importante de la tecnología del DNA recombinante. Muchas de ellas se mencionan en este y en los siguientes capítulos (**cuadro 39-2**).

Enzimas de restricción, endonucleasas, recombinasas y DNA ligasa se utilizan para diseñar y preparar moléculas de DNA quiméricas

Unir los extremos cohesivos complementarios, o pegajosos, de los fragmentos del DNA es fácil desde el punto de vista técnico, pero a menudo se requieren algunos procedimientos especiales para superar los problemas inherentes a este enfoque. Los extremos pegajosos de un vector pueden reconectarse con ellos mismos, sin ganancia neta de DNA. Los extremos pegajosos de los fragmentos también se renaturalizan para que se puedan formar insertos en tándem heterogéneos. Además, los sitios con extremo pegajoso pueden no estar disponibles o en una posición conveniente. Para aliviar estos problemas, se puede usar una enzima que genera extremos romos. Los extremos romos se pueden ligar de manera directa; sin embargo, la ligadura no es direccional. Para evitar este

CUADRO 39-2 Algunas de las enzimas utilizadas en la investigación del DNA recombinante

Enzima	Reacción	Uso primario
Fosfatasas	Desfosforilan los extremos 5′ de RNA y DNA	Eliminación de los grupos 5′-PO4 antes del marcaje de la cinasa; también se usa para prevenir la autoligadura
DNA ligasa	Cataliza enlaces entre moléculas de DNA	Unión de moléculas de DNA
DNA polymerase I	Sintetiza DNA de doble hebra a partir de DNA de una sola hebra	Síntesis de cDNA de doble hebra; marcaje de DNA y traducción de muesca; generación de extremos romos a partir de extremos pegajosos
DNA polimerasas termoestables	Sintetiza DNA a temperaturas elevadas (60-80 °C)	Reacción en cadena de la polimerasa (síntesis de DNA), mutagénesis
DNasa I	En condiciones apropiadas, produce muescas de una sola hebra en DNA	Traducción de muesca; mapeo de sitios hipersensibles; mapeo de las interacciones proteína-DNA
Exonucleasa III	Elimina los nucleótidos de los extremos 3′ de DNA	Secuenciación del DNA; ChIP-Exo, mapeo de las interacciones proteína-DNA
Exonucleasa λ	Elimina nucleótidos de los extremos 5′ del DNA	Secuenciación del DNA, mapeo de las interacciones proteína-DNA
Polinucleótido cinasa	Transfiere fosfato terminal (posición γ) del ATP a grupos 5′-OH de DNA o RNA	Marcaje de extremos ^{32}P de DNA o RNA
Transcriptasa inversa	Sintetiza DNA a partir del molde de RNA	Síntesis de cDNA a partir de mRNA; estudios de mapeo de RNA (extremo 5′)
RNAsa H	Degrada la porción de RNA de un DNA-RNA híbrido	Síntesis de cDNA a partir de mRNA
Nucleasa S1	Degrada DNA de una sola hebra	Eliminación de "horquilla" en la síntesis de cDNA; estudios de mapeo de RNA (extremos 5′ y 3′)
Transferasa terminal	Agrega nucleótidos a los extremos 3′ del DNA	Cola de homopolímero
Recombinasas (CRE, INT, FLP)	Cataliza recombinación específica de sitio entre secuencias blanco homólogas que contienen DNA	Generación de moléculas de DNA quiméricas específicas, trabajan tanto *in vitro* como *in vivo*
CRISPER-Cas9/C2c2	DNA apuntado por RNA o nucleasa dirigida por RNA	Edición de genoma y con variaciones de modulación de la expresión génica a niveles de DNA y RNA

problema, se pueden agregar nuevos extremos de DNA de secuencia específica mediante la ligadura directa de extremos romos utilizando bacteriófago T4 DNA ligasa. Alternativamente, se pueden agregar sitios de reconocimiento de RE convenientes a un fragmento de DNA mediante el uso de la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) (véase a continuación).

Como complemento del uso de endonucleasas de restricción para combinar y diseñar fragmentos de DNA, los científicos han comenzado a utilizar recombinasas, tales como los sitios de lox P bacterianos, que son reconocidos por la recombinasa CRE; los sitios att de bacteriófago λ, reconocidos por la proteína INT codificada por el fago λ, o sitios FRT de levadura, reconocidos por la recombinasa Flp de levadura. Todos estos sistemas de recombinasa catalizan la incorporación específica de dos fragmentos de DNA que llevan las secuencias de reconocimiento apropiadas y llevan a cabo la recombinación homóloga (véase figura 35-9) entre los sitios de reconocimiento relevantes. Un novedoso sistema de edición/regulación de genes denominado **CRISPR-Cas9** (*clustered regularly interspersed short palindromic repeats–associated gene* **9**), repeticiones palindrómicas cortas intercaladas regularmente agrupadas-gen 9 asociado, descubierto por primera vez en 2012, ha revolucionado los estudios de DNA genómico. El sistema CRISPR, que se encuentra en muchas bacterias, representa una forma de inmunidad adquirida o adaptativa (véanse capítulos 52, 54) para prevenir la reinfección de una bacteria por bacteriófagos específicos. El CRISPR complementa el sistema de endonucleasas de restricción y metilasas descrito antes. El CRISPR usa la orientación basada en RNA para llevar la nucleasa Cas9 al DNA extraño (o complementario). Dentro de las bacterias, este complejo CRISPR-RNA-Cas9 entonces degrada e inactiva el DNA blanco. El sistema CRISPR se ha adaptado para su uso en células eucariotas, incluidas las células humanas, en las que se ha demostrado que es una nucleasa específica de sitio dirigida por RNA, tal y como lo es en las bacterias. Las variaciones en el uso de CRISPR permiten la deleción, edición, visualización de genes e, incluso, la modulación de la transcripción de genes. Por tanto, el CRISPR ha agregado una nueva tecnología emocionante, altamente eficiente y muy específica, a la caja de herramientas de métodos para la manipulación del DNA y el análisis genético de células de mamíferos. Los aspectos básicos de la función CRISPR-Cas9 se describen en la **figura 39-2**.

Son notables las similitudes del método dirigido a RNA de CRISPR-Cas y el método de inactivación génica y la represión mediada por mi/siRNA de la expresión en eucariotas superiores. Ambas metodologías se están siguiendo de manera activa con fines experimentales y terapéuticos. De manera curiosa, se ha demostrado que una variante del sistema CRISPR-Cas, C2c2, corta RNA específicamente para el sitio. Este emocionante descubrimiento allana el camino para la posible alteración específica de los niveles de mRNA/ncRNA en células humanas, sin los desafíos éticos y técnicos inherentes a la edición del genoma con el sistema CRISPR-Cas9.

La clonación amplifica el DNA

Un clon es una gran población de moléculas, células u organismos idénticos que surgen de un ancestro común. La clonación molecular permite la producción de un gran número de moléculas de DNA idéntico, que luego se pueden caracterizar o utilizar para otros fines. Esta técnica se basa en el hecho de que se pueden construir moléculas de DNA híbridas o quiméricas en **vectores de clonación**, normalmente plásmidos bacterianos, fagos o cósmidos (plásmidos híbridos que también contienen secuencias de fagos específicas)

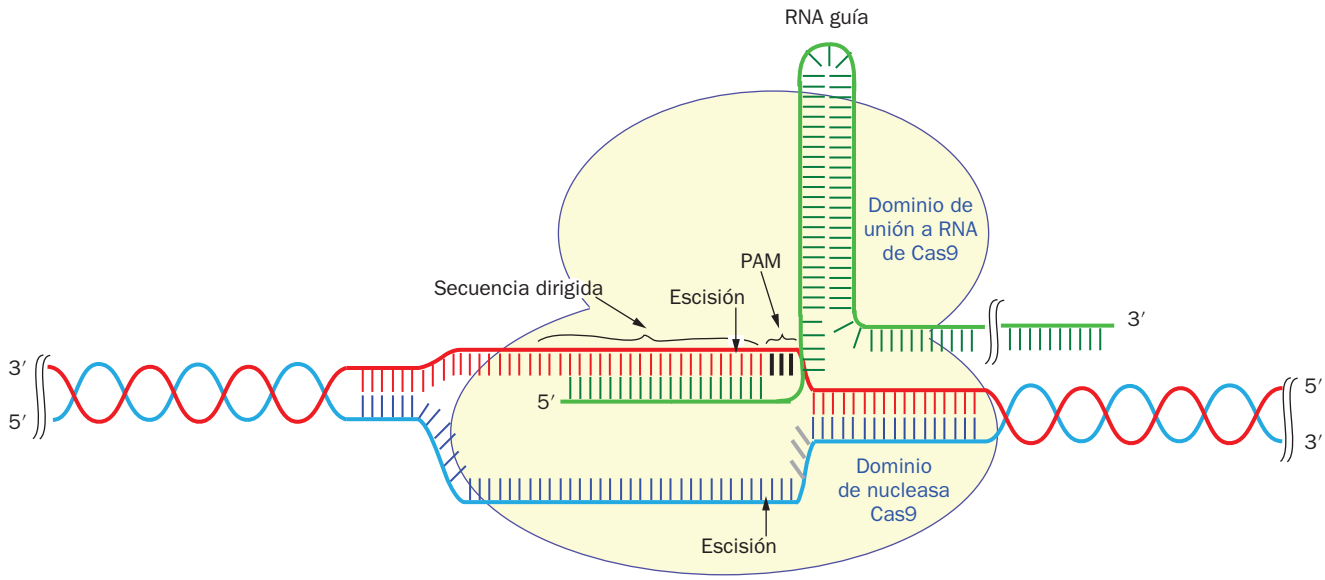


FIGURA 39-2 Panorámica del mecanismo de CRISPR-Cas9. Se muestra la proteína de nucleasa CRISPR-Cas9 de dos dominios unida al DNA genómico blanco (rojo, azul) y al RNA guía específico (verde), que a través de la complementariedad base (20 nts) ubica su objetivo genómico, que es adyacente a un motivo adyacente de protoespaciador corto, o PAM (*protospacer adjacent motif*). El enlace de RNA guía y los dominios de nucleasa están marcados. Una vez localizados de forma específica, los dos centros activos de nucleasa Cas9 distintos cortan ambas hebras del DNA genómico objetivo (corte, flechas) inmediatamente corriente abajo del PAM, lo que da como resultado la ruptura de la doble hebra del DNA. La posterior reparación del DNA mediante actividades celulares (véase capítulo 35) puede introducir mutaciones inactivando así el gen blanco. Las variaciones en el uso de CRISPR-Cas9 son numerosas y permiten esculpir la estructura y la expresión del DNA genómico.

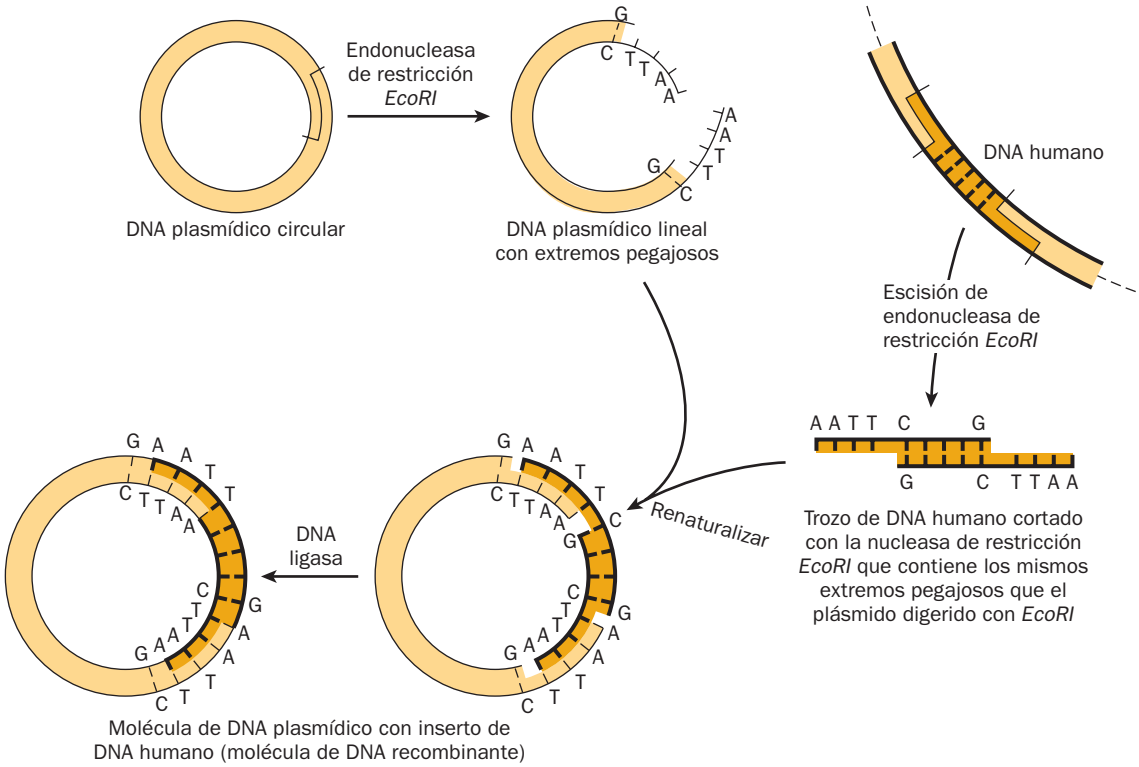


FIGURA 39-3 Uso de endonucleasas de restricción para formar nuevas moléculas de DNA recombinante o quimérico. Cuando se inserta de nuevo en una célula bacteriana (mediante el proceso llamado transformación mediada por DNA), por lo común un solo plásmido es absorbido por una sola célula, y el DNA plasmídico se replica mediante la clonación, no solo a sí mismo, sino también al nuevo inserto de DNA físicamente vinculado. Dado que la recombinación de los extremos pegajosos, como se indica, por lo general regenera la misma secuencia de DNA reconocida por la enzima de restricción original, el inserto de DNA clonado se puede recortar limpiamente del círculo del plásmido recombinante con esta endonucleasa. Alternativamente, las secuencias de inserción pueden amplificarse de manera específica a partir del DNA plasmídico quimérico purificado mediante PCR (figura 39-7). Si se utiliza una mezcla de todas las partes de DNA creadas mediante el tratamiento del DNA humano total con una única nucleasa de restricción como fuente de DNA humano, se pueden obtener un millón, o más, de tipos diferentes de moléculas de DNA recombinante, cada una pura en su propia clon bacteriano. (Modificado y reproducido con permiso de Cohen SN. La manipulación de genes. Sci Am 1975 Jul;233:25. Copyright © The Estate of Bunji Tagawa).

que luego continúan replicándose mediante la clonación en una única célula huésped, bajo sus propios sistemas de control. De esta forma, el DNA quimérico se amplifica. El procedimiento general se ilustra en la **figura 39-3**.

Los **plásmidos** bacterianos son pequeñas moléculas de DNA, circulares, dúplex, cuya función natural es conferir, a la célula huésped, resistencia a los antibióticos. Los plásmidos tienen varias propiedades que los hacen en extremo útiles como vectores de clonación. Existen como copias únicas o múltiples dentro de la bacteria y se replican con independencia del DNA bacteriano como **episomas** (es decir, un genoma encima o fuera del genoma bacteriano) mientras se usa principalmente la maquinaria de replicación del huésped. La secuencia completa de DNA de miles de plásmidos es conocida; por tanto, está disponible la ubicación precisa de los sitios de corte de enzimas de restricción para insertar el DNA extraño. Los plásmidos son más pequeños que el cromosoma huésped y, por tanto, se separan de manera fácil bioquímicamente de este último, y el DNA insertado en el plásmido deseado se puede eliminar con facilidad cortando el plásmido con la enzima específica para el sitio de restricción en el que se insertó el fragmento original de DNA.

Los fagos (virus bacterianos) a menudo tienen genomas de DNA lineal en los que se puede insertar DNA extraño en sitios únicos de enzimas de restricción. El DNA quimérico resultante se recoge después de que el fago avanza a lo largo de su ciclo lítico y produce partículas de fagos infecciosas, maduras. Una ventaja principal de los vectores de fagos es que, aunque los plásmidos aceptan fragmentos de DNA de hasta alrededor de 10 kb de longitud, los fagos pueden aceptar de manera muy fácil fragmentos de DNA de hasta ~20 kb de longitud. El tamaño máximo de inserción se impone por la cantidad de DNA que se puede empaquetar en la cabeza del fago durante la propagación del virus.

Se pueden clonar fragmentos más grandes de DNA en **cósmidos**, vectores de clonación de DNA que combinan las mejores características de plásmidos y fagos. Los cósmidos son plásmidos que contienen las secuencias de DNA, los denominados **sitios cos**, necesarios para el empaquetamiento del DNA lambda en la partícula del fago. Estos vectores crecen en forma de plásmido en bacterias, pero dado que gran parte del DNA lambda innecesario se ha eliminado, se puede empaquetar más DNA quimérico en el cabezal de la partícula. Los cósmidos pueden llevar insertos de DNA quimérico de 35 a 50 kb de longitud. Incluso fragmentos más grandes de

CUADRO 39-3 Capacidades de clonación de vectores de clonación comunes

Vector	Tamaño de inserto de DNA (kb)
Plásmido pUC19	0.01-10
Lambda charon 4A	10-20
Cósmidos	35-50
BAC, P1	50-250
YAC	500-3 000

DNA se pueden incorporar en el cromosoma artificial bacteriano (**BAC**, *bacterial artificial chromosome*), el cromosoma artificial de levadura (**YAC**, *yeast artificial chromosome*), o los vectores del cromosoma artificial derivados del bacteriófago P1 (**PAC,** *P1-derived artificial chromosome*) de *E. coli*. Estos vectores aceptarán y propagarán insertos de DNA de varios cientos de kilobases o más, y han reemplazado en gran medida, los vectores de plásmido, fago y cósmido para algunas aplicaciones de clonación y mapeo/expresión de genes eucariotas. Una comparación de estos vectores se muestra en la **cuadro 39-3**.

Debido a que la inserción de DNA en una región funcional del vector interferirá con la acción de esta región, se debe tener cuidado de no interrumpir una función esencial del vector. Sin embargo, este concepto puede explotarse para proporcionar una poderosa técnica de selección doble positiva/negativa. Por ejemplo, un vector plasmídico temprano común **pBR322** tiene genes que confieren resistencia tanto a **tetraciclina (Tet**) como a **ampicilina (Amp**), es decir, crecimiento resistente a **Tet^r** y **Amp^r**, respectivamente. Un solo sitio de enzima de restricción *PstI* dentro del gen de resistencia Amp se usa comúnmente como el sitio de inserción de un fragmento de DNA extraño. Además de tener extremos pegajosos (cuadro 39-1 y figura 39-1), el DNA insertado en este sitio interrumpe el ORF del gen *bla* que codifica la β-lactamasa. La β-lactamasa, una enzima secretada, degrada e inactiva la ampicilina. Una bacteria portadora de dicho plásmido será sensible a Amp (Amp^s). Por tanto, las células que llevan el plásmido parental, que proporciona resistencia a ambos antibióticos, pueden distinguirse con facilidad y separarse de las células que portan el plásmido quimérico, que es resistente sólo a la tetraciclina (**figura 39-4**). Los YAC contienen funciones de selección, replicación y segregación que funcionan tanto en bacterias como en células de levadura y, por consiguiente, pueden propagarse en cualquier organismo.

Además de los vectores descritos en la cuadro 39-3 que están diseñados principalmente para la propagación en células bacterianas, también se han desarrollado vectores para la propagación de células de mamíferos y la expresión de proteína/gen insertado (cDNA). Todos estos vectores están basados en varios virus eucariotas que están compuestos por genomas de RNA o DNA. Ejemplos importantes de dichos **vectores virales** son los que utilizan genomas **adenovirales** (**Ad**, *adenoviral*), o **virales asociados con adenovirus** (**AAV,** *adenovirus-associated viral*) (basados en DNA) y **retrovirales** (basados en RNA). Aunque algo limitado en el tamaño de las secuencias de DNA que se pueden insertar, tales **vectores**

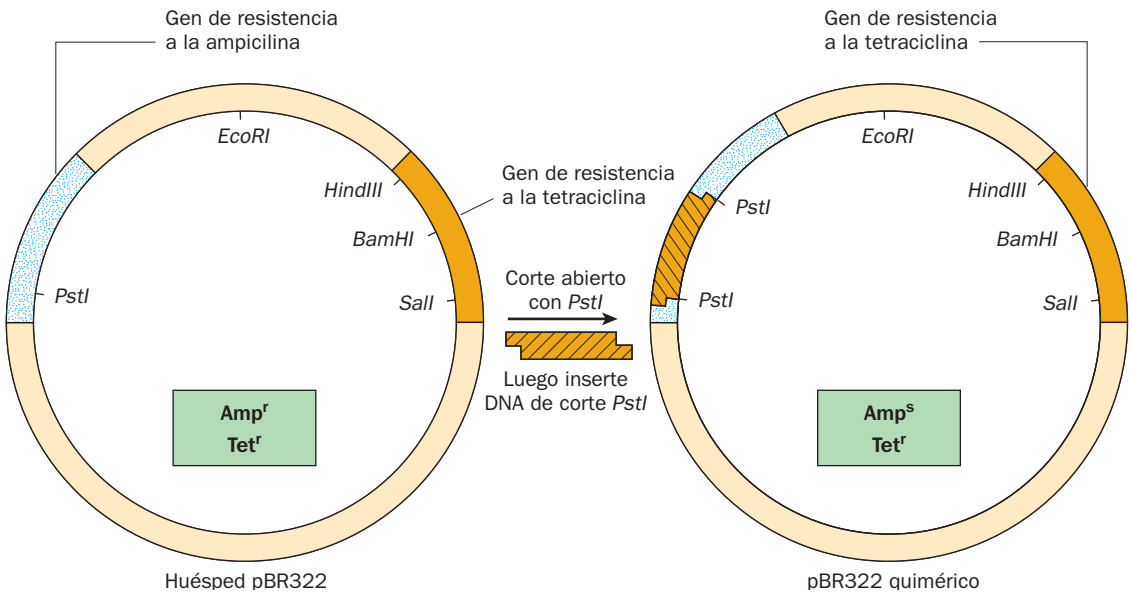


FIGURA 39-4 Método de selección de recombinantes para fragmentos de DNA insertados. Usando el plásmido pBR322, se inserta un fragmento de DNA en el único *sitio PstI*. Esta inserción interrumpe el marco de lectura del codón para el gen que codifica una proteína que proporciona resistencia a ampicilina a la bacteria huésped. Por tanto, las células que portan el plásmido quimérico ya no crecerán/sobrevivirán cuando se cultiven en líquido, o se inoculen en un medio de sustrato que contenga este antibiótico. La sensibilidad diferencial a tetraciclina y ampicilina se puede usar para distinguir clones de plásmidos que contienen un inserto. Un esquema similar que se basa en la producción de una fusión en el marco de un DNA recién insertado que produce un fragmento peptídico capaz de complementar una forma truncada inactiva en el extremo N de la enzima β-galactosidasa, un componente del operón *lac* (véase figura 38- 2), permite la formación de colonias azul-blancas en placas de agar que contienen un colorante hidrolizable por β-galactósido. Las colonias positivas a β-galactosidasa son azules; dichas colonias contienen plásmidos en los que se insertó con éxito un DNA.

virales de clonación de mamíferos compensan esta deficiencia, porque infectarán de manera eficiente una amplia gama de diferentes tipos de células. Por esta razón, diversos vectores virales de mamíferos, algunos con genes de selección tanto positivos como negativos (también conocidos como "marcadores" seleccionables, como se indicó antes para pBR322) están siendo investigados para su uso en **terapia génica** y se usan comúnmente para experimentos de laboratorio.

Una genoteca es una colección de clones recombinantes

La combinación de enzimas de restricción y varios vectores de clonación permite que el genoma completo de un organismo se empaquete de manera individual, en pequeños segmentos, en un vector. Una colección de estos diferentes clones recombinantes se llama biblioteca. Una **genoteca genómica** se prepara a partir del DNA total de una línea celular o tejido que se ha fragmentado usando endonucleasas de restricción, o corte y unión del adaptador a los fragmentos resultantes. Una **genoteca de cDNA** comprende copias de DNA complementarias de la población de mRNA en un tejido. Las genotecas de DNA genómico a menudo se preparan realizando una **digestión parcial del DNA total** con una enzima de restricción que corta el DNA con frecuencia (p. ej., un cortador de cuatro bases tal como *TaqI*). La idea es generar fragmentos bastante grandes para que la mayoría de los genes permanezcan intactos. Se prefieren los vectores BAC, YAC y P1, ya que pueden aceptar fragmentos muy grandes de DNA y, por tanto, ofrecen una mejor oportunidad de aislar un gen que codifica mRNA eucariota intacto en un único fragmento de DNA.

Un vector en el que la proteína codificada por el gen introducido por la tecnología de DNA recombinante se sintetiza en realidad se conoce como un **vector de expresión**. Dichos vectores ahora se usan comúnmente para detectar moléculas de cDNA específicas en genotecas y para producir proteínas mediante técnicas de ingeniería genética. Estos vectores están construidos en especial para contener promotores inducibles muy activos, codones de iniciación de la traducción en fase adecuados, señales de terminación de transcripción y traducción, y señales de procesamiento de proteínas apropiadas, si es necesario. Algunos vectores de expresión, incluso, contienen genes que codifican inhibidores de proteasa, de modo que se mejora el rendimiento final del producto. Curiosamente, como el costo de la síntesis de DNA sintético ha disminuido, muchos investigadores simplemente sintetizan con frecuencia un cDNA completo (gen) de interés (en segmentos de 100-150 nt) incorporando las preferencias de codón del huésped utilizado para la expresión con el fin de maximizar la producción de proteínas. Nuevas eficiencias en la síntesis de DNA sintético ahora permiten la síntesis *de novo* de genes completos e incluso genomas. Estos avances dan paso a nuevas y emocionantes posibilidades en la biología sintética, al tiempo que presentan de manera concomitante enigmas éticos.

Sondas de búsqueda de genotecas o muestras complejas para genes específicos o moléculas de cDNA

Se puede usar una variedad de moléculas para "explorar" genotecas en busca de un gen específico o molécula de cDNA, o para definir y cuantificar DNA o RNA separados por electroforesis a través de diversos geles. Las sondas, por lo general, son pedazos de DNA o RNA marcados con un nucleótido que contiene 32^P o nucleótido(s) marcado(s) con fluorescencia (más comúnmente ahora). Es importante destacar que ninguna modificación (32^P o marcaje fluorescente) afecta las propiedades de hibridación de las sondas de ácido nucleico marcadas resultantes. La sonda debe reconocer una secuencia complementaria para ser efectiva. Un cDNA sintetizado a partir de un mRNA específico (o un oligonucleótido sintético) se puede usar para seleccionar una genoteca de cDNA para un cDNA más largo o una genoteca genómica para una secuencia complementaria en la región codificante de un gen. Las sondas de cDNA/oligonucleótido/cRNA se utilizan para detectar fragmentos de DNA en electrotransferencia Southern y para detectar y cuantificar RNA en transferencias Northern blot (véase a continuación).

Las técnicas de electrotransferencia e hibridación permiten la visualización de moléculas blanco específicas

La visualización de un fragmento específico de DNA o RNA (o proteína, véase a continuación) entre los muchos miles de moléculas no blanco "contaminantes" en una muestra compleja requiere la convergencia de varias técnicas, denominadas en colectivo **electrotransferencia. La figura 39-5** ilustra los procedimientos de **electrotransferencia Southern** (DNA), **Northern** (RNA) y **Western** (proteína). La primera técnica lleva el nombre de la persona que la ideó, Edward Southern; los otros nombres comenzaron como jerga de laboratorio, pero ahora son términos aceptados. Estos procedimientos son útiles para determinar cuántas copias de un gen hay en un tejido determinado o si hay alteraciones en un gen (deleciones, inserciones o reordenamientos) porque el paso inicial de electroforesis en gel separa las moléculas en función del tamaño. En ocasiones, si se cambia una base específica y se altera un sitio de restricción, estos procedimientos pueden detectar una mutación puntual (véase figura 39-9 a continuación). Las técnicas de electrotransferencia Northern y Western se usan para dimensionar y cuantificar moléculas específicas de RNA y proteína, respectivamente. Una cuarta técnica, **Southwestern** o transferencia por superposición de capas, que examina las interacciones proteína-ácido nucleico o las interacciones proteína-proteína, respectivamente, son variantes de los métodos de transferencia Southern/Northern/Western (no mostrados). En estas dos últimas técnicas, las proteínas se separan por electroforesis, se transfieren a una membrana, renaturalizan y se analizan para una interacción con una secuencia o proteína de DNA o RNA particular mediante incubación con una sonda de ácido nucleico marcada específica (Southwestern) o sonda proteica (ensayo de superposición) usando una proteína marcada, o alternativamente, las interacciones proteína-proteína se detectan usando un anticuerpo específico.

Todos los procedimientos de hibridación basados en ácido nucleico que se estudian en esta sección dependen de las propiedades específicas de emparejamiento de bases de las hebras complementarias de ácido nucleico (véase capítulo 34). Las coincidencias perfectas se hibridan fácilmente y soportan altas temperaturas y/o un tampón de baja fuerza iónica en las reacciones de hibridación y lavado. Las coincidencias menos que perfectas no toleran **condiciones tan rigurosas** (es decir, temperaturas elevadas y concentraciones bajas de sal); por tanto, la hibridación nunca ocurre, o se interrumpe, durante la etapa de lavado. Se han ideado condiciones de hibridación capaces de detectar sólo un error de emparejamiento de pares de bases único (bp) entre la sonda y el objetivo.

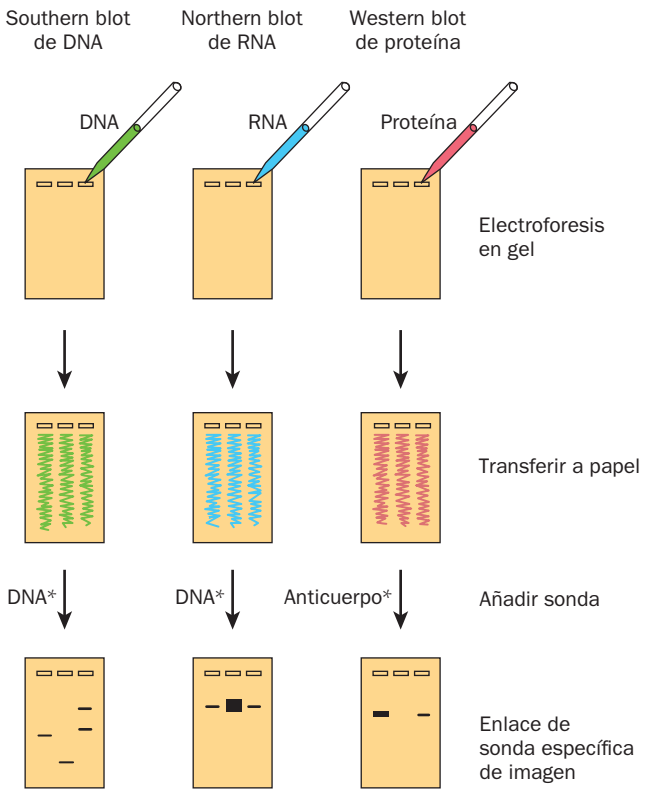


FIGURA 39-5 Procedimiento de electrotransferencia. En una transferencia Southern, o transferencia de DNA, el DNA aislado de una línea celular o tejido se digiere con una o más enzimas de restricción. Esta mezcla se pipetea en un pocillo en un gel de agarosa o poliacrilamida y se expone a una corriente eléctrica directa. El DNA, cargado negativamente, migra hacia el ánodo; los fragmentos más pequeños se mueven de manera más rápida. Después de un tiempo adecuado, el DNA dentro del gel se desnaturaliza por exposición a álcali suave y se transfiere, mediante acción capilar (o electrotransferencia, no mostrada), a nitrocelulosa o papel de nylon, lo que da como resultado una réplica exacta del patrón en el gel, utilizando la técnica de electrotransferencia ideada por Southern. El DNA se une al papel por exposición al calor o a los rayos UV, y el papel se expone luego a la sonda de DNA marcada, que se hibrida con hebras complementarias en el filtro. Después de un lavado completo, el papel se expone a una película de rayos X o a una pantalla de imágenes, que se desarrolla para revelar varias bandas específicas correspondientes a los fragmentos de DNA que se reconocieron (se hibridaron) con las secuencias en la sonda de DNA. La transferencia de RNA, o Northern, es conceptualmente similar. El RNA se somete a electroforesis antes de la electrotransferencia. Esto requiere algunos pasos diferentes de los de la transferencia de DNA, principalmente para garantizar que el RNA permanezca intacto, y en general es algo más difícil. En la proteína, o Western blot, las proteínas se someten a electroforesis y se transfieren a un papel especial que se une con avidez a proteínas, y luego se sondean con un anticuerpo específico u otra molécula de sonda. (Los asteriscos significan sondas marcadas, ya sean radiactivas o fluorescentes). En el caso de la transferencia Southwestern (consúltese el texto, no se muestra), una transferencia de proteína similar a la que se muestra arriba en "Western" está expuesta a ácido nucleico marcado, y los complejos proteína-ácido nucleico formados se detectan por autorradiografía o formación de imágenes.

Se dispone de técnicas manuales y automatizadas para determinar la secuencia de DNA

Los segmentos de moléculas de DNA específicas obtenidas mediante tecnología de DNA recombinante se pueden analizar para determinar su secuencia de nucleótidos. La secuenciación de DNA depende de tener una población de moléculas de DNA idénticas. Este requisito se puede satisfacer clonando el fragmento de interés, ya sea utilizando las técnicas descritas con anterioridad, o mediante el uso de métodos de PCR (véase a continuación). **El método enzimático manual de Sanger** emplea didesoxinucleótidos específicos que terminan la síntesis de la hebra de DNA en nucleótidos específicos a medida que la hebra se sintetiza en DNA de plantilla de una sola hebra purificado. Las reacciones se ajustan para que se obtenga una población de fragmentos de DNA que represente la terminación en cada nucleótido. Al tener una etiqueta radiactiva incorporada en el sitio de terminación, se pueden separar los fragmentos de acuerdo con el tamaño, usando electroforesis en gel de poliacrilamida. Se realiza una autorradiografía, y cada uno de los fragmentos produce una imagen (banda) en una película de rayos X o placa de imagen. Estos se leen para dar la secuencia de DNA (**figura 39-6**). Las técnicas que no requieren el uso de radioisótopos se emplean en la secuenciación de DNA automatizada. El más comúnmente empleado es un procedimiento automático en el que se utilizan cuatro marcadores fluorescentes diferentes, uno de los cuales representa cada nucleótido. Cada uno emite una señal específica tras la excitación por un rayo láser de una longitud de onda particular que se mide por detectores sensibles, y estas señales pueden ser grabadas por una computadora. Las máquinas de secuenciación de DNA más nuevas usan nucleótidos marcados con fluorescencia, pero detectan la incorporación mediante ópticas microscópicas. Estas máquinas han reducido el costo de la secuenciación de DNA en órdenes de magnitud. Estas reducciones en el costo han dado paso a la era de la secuenciación personalizada del genoma. De hecho, con el uso de esta nueva tecnología, la secuencia del genoma del codescubridor de la doble hélice, James Watson, se determinó completamente.

La síntesis de oligonucleótidos es ahora rutina

La síntesis química automatizada de oligonucleótidos moderadamente largos (~100 nucleótidos) de secuencia precisa es ahora un procedimiento de laboratorio de rutina. Cada ciclo sintético requiere minutos, de forma tal que se pueden formar moléculas de DNA muy grandes sintetizando segmentos relativamente cortos que luego se unen entre sí. Como se mencionó antes para la secuenciación del DNA, el proceso se ha minimizado y puede realizarse en paralelo para permitir la síntesis de cientos a miles de oligonucleótidos de secuencia definida con simultaneidad. Los oligonucleótidos son ahora indispensables para la secuenciación de DNA, cribado de genotecas, ensayos de unión de proteína y DNA, PCR (véase más adelante), mutagénesis dirigida a sitio, síntesis completa de genes sintéticos, así como síntesis completa (bacteriana) del genoma, entre otras numerosas aplicaciones.

El método de reacción en cadena de la polimerasa amplifica las secuencias de DNA

La **PCR** es un método para amplificar una secuencia blanco de DNA. El desarrollo de PCR ha revolucionado las formas en que se

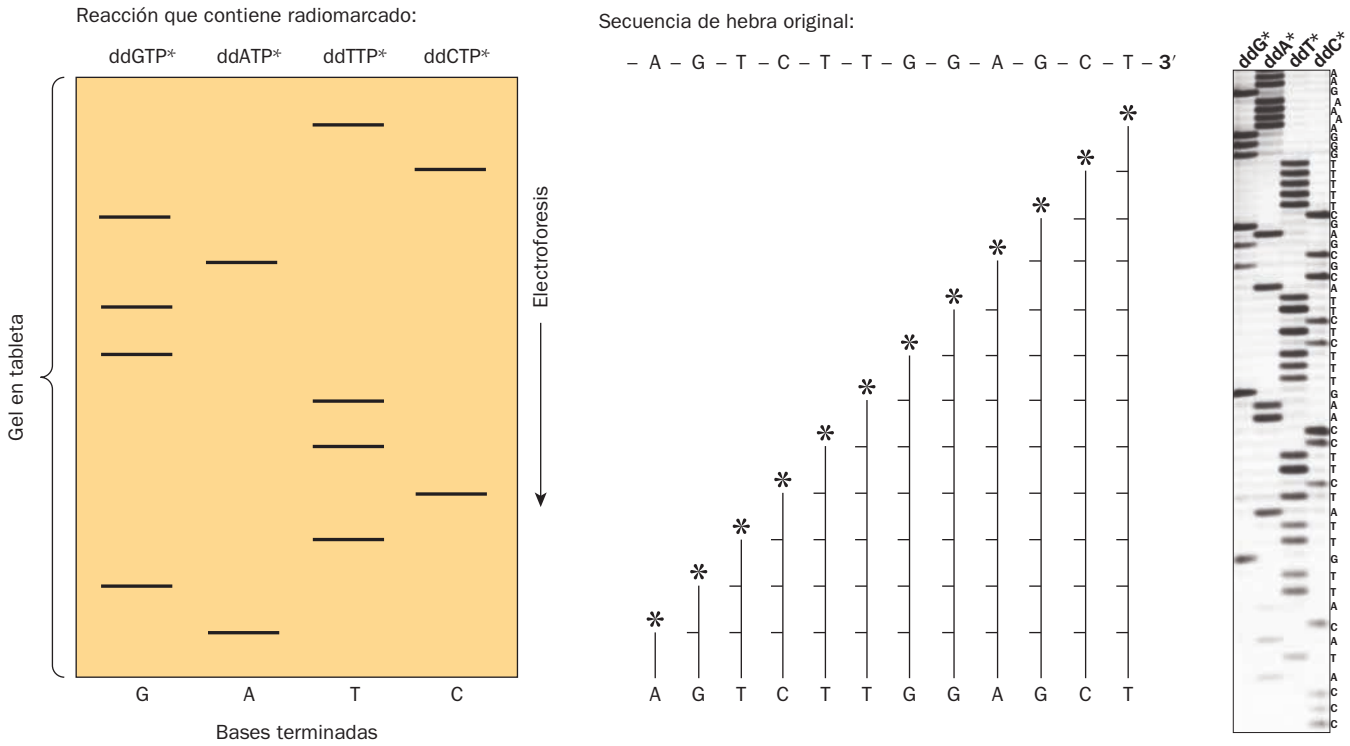


FIGURA 39-6 Secuenciación de DNA mediante el método de terminación de cadena ideado por Sanger. Las matrices en forma de escalera representan, de abajo hacia arriba, todos los fragmentos sucesivamente más largos de la hebra de DNA original. Sabiendo qué reacción de didesoxinucleótido específica se realizó para producir cada mezcla de fragmentos, se puede determinar la secuencia de nucleótidos desde el extremo no marcado hacia el extremo marcado (*) leyendo el gel. Las reglas de emparejamiento de bases de Watson y Crick (A-T, G-C) dictan la secuencia de la otra hebra (complementaria). (Los asteriscos indican el sitio del radiomarcaje). Se muestra de manera esquemática (izquierda, en el medio) los productos de síntesis terminados de un fragmento hipotético de DNA, la secuencia enumerada (centro, parte superior). Autorradiograma (derecha) de un conjunto real de reacciones de secuenciación de DNA que utiliza los cuatro didesoxinucleótidos marcados con 32^P indicados en la parte superior del autorradiograma escaneado (es decir, didesoxy(dd)G, ddA, ddT, ddC). La electroforesis fue de arriba hacia abajo. La secuencia de DNA deducida se enumera en el lado derecho del gel. Tenga en cuenta la relación log-lineal entre la distancia de migración (es decir, de arriba a abajo del gel) y la longitud del fragmento de DNA. Los secuenciadores de DNA de última generación ya no utilizan la electroforesis en gel para el fraccionamiento de productos de síntesis marcados. Además, en la mayoría de las plataformas de secuenciación de NGS, la síntesis es seguida por la incorporación de monitoreo de los cuatro dXTP marcados con fluorescencia.

pueden estudiar tanto el DNA como el RNA. La PCR proporciona un medio sensible, selectivo y extremadamente rápido para amplificar cualquier secuencia de DNA deseada. La especificidad se basa en el uso de dos cebadores de oligonucleótidos que se hibridan con secuencias complementarias en hebras opuestas de DNA y flanquean la secuencia blanco (**figura 39-7**). Primero, la muestra de DNA es el primer calor desnaturalizado (>90 °C), para separar las dos hebras del DNA molde que contiene la secuencia blanco; los cebadores, agregados en exceso, se pueden recocer al DNA (usualmente a 50-75 °C), para generar el complejo de molde-cebador requerido. Posteriormente, cada hebra es copiada por una DNA polimerasa, comenzando en los sitios del cebador en presencia de los cuatro dXTP. Las dos hebras de DNA sirven cada una como plantilla para la síntesis del nuevo DNA, a partir de los dos cebadores. Los ciclos repetidos de desnaturalización por calor, la recombinación de los cebadores con sus secuencias complementarias y la extensión de los cebadores recocidos con la DNA polimerasa dan como resultado la amplificación exponencial de segmentos de DNA de longitud definida. El DNA del producto se duplica con cada ciclo de PCR. La síntesis de DNA es catalizada por una DNA polimerasa termoestable purificada a partir de una de varias bacterias termófilas diferentes, organismos que crecen a una temperatura de 70 a 80 °C. Las DNA polimerasas termoestables soportan incubaciones cortas a más de 90°, la temperatura requerida para desnaturalizar completamente el DNA. Estas DNA polimerasas termoestables han hecho posible la automatización de la PCR.

Las secuencias de DNA tan cortas como 50 a 100 bp y tan largas como 10 kb pueden amplificarse con facilidad por PCR. Veinte ciclos proporcionan una amplificación de 10^6 (es decir, 2^{20}) y 30 ciclos, 10^9 (2^{30}). Cada ciclo lleva de ≤5 a 10 minutos, de modo que, incluso, las moléculas de DNA grandes pueden amplificarse con bastante rapidez. Debido a las diferencias sutiles en la secuencia de DNA con cada nuevo objetivo de PCR, las condiciones exactas para la amplificación deben optimizarse empíricamente. La técnica de PCR es fundamental para muchas tecnologías de secuenciación de DNA/RNA. El método de PCR permite amplificar y analizar el DNA en una sola célula, folículo piloso o espermatozoide. Por tanto, las aplicaciones de PCR a la medicina forense son obvias. La

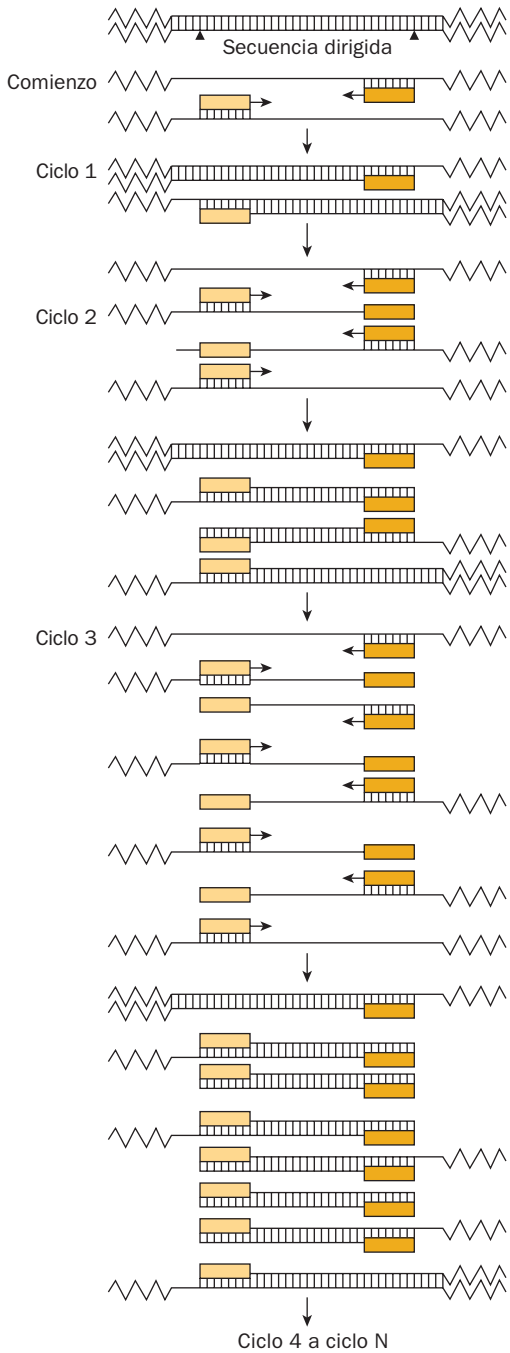


FIGURA 39-7 La técnica de reacción en cadena de la polimerasa se utiliza para amplificar secuencias génicas específicas. El DNA de doble hebra se calienta para separarlo en hebras individuales. Estas se unen a dos cebadores distintos que están dirigidos a secuencias específicas en hebras opuestas y que definen el segmento a amplificar. La DNA polimerasa extiende los cebadores en cada dirección y sintetiza dos hebras complementarias a las dos originales. Este ciclo se repite 30 o más veces, dando un producto amplificado de longitud y secuencia definidas. Obsérvese que los 4 dXTP y los dos cebadores están presentes en exceso para minimizar la posibilidad de que estos componentes sean limitantes para la polimerización/amplificación. Sin embargo, es importante señalar que a medida que aumenta el número de ciclos, las tasas de incorporación pueden disminuir y las tasas de mutación/error pueden aumentar.

PCR también se usa 1) para detectar y cuantificar agentes infecciosos, en especial virus latentes, 2) realizar diagnósticos genéticos prenatales, 3) para detectar polimorfismos alélicos que van desde cambios de un solo par de bases hasta indels grandes y pequeños, y amplificación génica, 4) establecer tipos de tejidos precisos para trasplantes, y 5) estudiar la evolución, utilizando DNA de muestras arqueológicas 6) para análisis cuantitativos de RNA después de la copia de RNA y la cuantificación de mRNA por el denominado método RTPCR (copias de cDNA de mRNA generadas por una transcriptasa inversa retroviral) o 7) para puntuar la ocupación *in vivo* de DNA de proteína usando análisis de inmunoprecipitación de cromatina (véase a continuación). Los nuevos usos de PCR se desarrollan cada año.

LAS APLICACIONES PRÁCTICAS DE LA TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE SON NUMEROSAS

El aislamiento de un gen que codifica mRNA específico (alrededor de 1 000 bp) de un genoma humano completo requiere una técnica que discrimine una parte en un millón. La identificación de una región reguladora que puede tener sólo 10 bp de longitud requiere una sensibilidad de una parte en 3×10^8; una enfermedad como la anemia de células falciformes es causada por un único cambio de base, o una parte en 3×10^9. La tecnología del DNA es lo suficientemente potente como para lograr todo esto.

El mapeo de genes localiza genes específicos para distinguir cromosomas

La localización de genes puede definir un mapa del genoma humano. Esto ya está proporcionando información útil en la definición de enfermedad humana. La hibridación de células somáticas y la hibridación *in situ* son dos técnicas usadas históricamente para lograr esto. En la **hibridación *in situ***, el procedimiento más simple y más directo, se agrega una sonda radiactiva a una metafase extendida de los cromosomas en un portaobjetos de vidrio. El área exacta de hibridación se localiza mediante la colocación de una emulsión fotográfica sobre el portaobjetos y, después de la exposición, se alinean los granos con alguna identificación histológica del cromosoma. **La hibridación fluorescente *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridization*),** que utiliza sondas fluorescentes en lugar de radiactivas, es una técnica muy sensible que también se usa para este propósito. Esto a menudo coloca el gen en una ubicación en una banda o región determinada en el cromosoma. Algunos de los genes humanos localizados utilizando estas técnicas se enumeran en el **cuadro 39-4**. Este cuadro representa sólo una muestra de genes mapeados, ya que se han cartografiado decenas de miles de genes como resultado de la secuenciación de genomas humanos. Una vez que el defecto se ubica en una región de DNA que tiene la estructura característica de un gen, se puede construir una copia de cDNA sintética del gen, la cual contiene sólo exones que codifican mRNA, y expresarse en un vector apropiado, y se puede evaluar su función, o el polipéptido putativo, deducido del marco de lectura abierta en la región de codificación, puede sintetizarse. Los anticuerpos dirigidos contra esta proteína o fragmentos de péptidos derivados de ellos se pueden usar para evaluar si esta proteína se expresa en personas normales y si está ausente o alterada en aquellas con síndrome genético.

CUADRO 39-4 Localización de genes humanos[a]

Gen	Cromosoma	Enfermedad
Insulina	11p15	Diabetes
Prolactina	6p23-q12	Síndrome de Sheehan
Hormona de crecimiento	17q21-qter	Deficiencia de la hormona de crecimiento
α-globina	16p12-pter	α-talasemia
β-globina	11p12	β-talasemia, drepanocitosis
Adenosina desaminasa	20q13-qter	Deficiencia de adenosina desaminasa
Fenilalanina hidroxilasa	12q24	Fenilcetonuria
Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa	Xq26-q27	Síndrome de Lesch-Nyhan
Segmento de DNA G8	4p	Corea de Huntington

[a]Este cuadro indica la ubicación cromosómica de varios genes y las enfermedades asociadas con la producción deficiente o anormal de los productos génicos. El cromosoma involucrado se indica con el primer número o letra. Los otros números y letras se refieren a localizaciones precisas, como se define en McKusick VA: *Herencia mendeliana en el hombre: catálogos de fenotipos autosómicos dominantes, autosómicos recesivos y vinculados a X*. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1983.

Las proteínas se pueden producir para investigación, diagnóstico y comercio

Un objetivo práctico de la investigación del DNA recombinante es la producción de materiales para aplicaciones biomédicas. Esta tecnología tiene dos méritos distintos: 1) puede suministrar grandes cantidades de material que no podría obtenerse mediante métodos de purificación convencionales (p. ej., interferón, factor activador del plasminógeno tisular, etc.), y 2) puede proporcionar proteínas humanas (p. ej., insulina y hormona del crecimiento). Las ventajas en ambos casos son obvias. Aunque el objetivo principal es suministrar productos, por lo general proteínas, para el tratamiento (insulina) y el diagnóstico (pruebas de AIDS) de enfermedades humanas y de animales, y para la prevención de enfermedades (vacuna contra la hepatitis B), existen otras aplicaciones comerciales potenciales, especialmente en la agricultura. Un ejemplo de esto último es el intento de diseñar plantas más resistentes a la sequía o temperaturas extremas, más eficientes en la fijación de nitrógeno o que produzcan semillas que contengan el complemento completo de aminoácidos esenciales (arroz, trigo, maíz, etc.).

La tecnología del DNA recombinante se usa en el análisis molecular de la enfermedad

Variaciones genéticas normales

Existe una variación normal de la secuencia de DNA, tal como ocurre con los aspectos más obvios de la estructura humana. Las variaciones de la secuencia de DNA, **polimorfismos**, ocurren alrededor de una vez cada 500 a 1 000 nucleótidos. Una comparación reciente de la secuencia de nucleótidos del genoma de James Watson, el codescubridor de la estructura del DNA, identificó unos 3 300 000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, *single-nucleotide polymorphisms*) en relación con el genoma de referencia humano inicialmente secuenciado "estándar". De manera curiosa, >80% de los SNP encontrados en el DNA de Watson ya habían sido identificados en otras personas. También hay deleciones e inserciones genómicas de DNA, es decir**, variaciones en el número de copias** (**CNV, *copy number variations***), así como sustituciones de una sola base. En personas sanas, estas alteraciones obviamente ocurren en regiones no codificantes de DNA o en sitios que no causan ningún cambio en la función de la proteína codificada. Este polimorfismo hereditario de la estructura del DNA se puede asociar con ciertas enfermedades dentro de una gran familia y se puede usar para buscar el gen específico involucrado, como se ilustra a continuación. También se puede utilizar en una variedad de aplicaciones en medicina forense.

Variaciones genéticas que causan enfermedad

La genética clásica enseñaba que las enfermedades genéticas se debían a mutaciones puntuales que daban como resultado una proteína deteriorada. Esto todavía puede ser cierto, pero si al leer los capítulos anteriores se predijo que la enfermedad genética podría ser el resultado de la alteración de cualquiera de los pasos que conducen desde la replicación a la transcripción al procesamiento/transporte de RNA y síntesis proteica, PTM y/o localización subcelular y estado físico (es decir, agregación y polimerización), se habría realizado una evaluación adecuada. Este punto se ilustra muy bien mediante el examen del gen de la β-globina. Este gen está ubicado en un grupo en el cromosoma 11 (**figura 39-8**), y una versión expandida del gen se ilustra en la **figura 39-9**. La producción defectuosa de β-globina produce una variedad de enfermedades y se debe a muchas lesiones diferentes en y alrededor del gen de la β-globina (**cuadro 39-5**).

Mutaciones puntuales

El ejemplo clásico es la **enfermedad de células falciformes**, causada por la mutación de una base única de 3×10^9 en el genoma, una sustitución de DNA T-a-A, que a su vez da como resultado un cambio de A a U. en el mRNA correspondiente al sexto codón del gen de la β-globina. El codón alterado especifica un aminoácido diferente (valina en lugar de ácido glutámico), y esto causa una anormalidad estructural de la molécula de β-globina que conduce a la agregación de hemoglobina y "enfermedad" de los glóbulos rojos. Otras mutaciones puntuales dentro y alrededor del gen de la β-globina causan la disminución o, en algunos casos, la producción de β-globina; la β-talasemia es el resultado de estas mutaciones. (Las talasemias se caracterizan por defectos en la síntesis de las subunidades de hemoglobina, por lo que la β-talasemia se produce cuando la producción de β-globina es insuficiente). La figura 39-9 ilustra que las mutaciones puntuales que afectan a cada uno de los muchos procesos implicados en la generación de un mRNA (y, por tanto, una proteína normal) se han relacionado como una causa de β-talasemia.

Deleciones, inserciones y reordenamientos del DNA

Los estudios de bacterias, virus, levaduras, moscas de la fruta y ahora los humanos muestran que los fragmentos de DNA pueden moverse o transponerse de un lugar a otro, dentro de un genoma, a través del proceso de **transposición del DNA**. La eliminación de un fragmento vital de DNA, la reorganización del DNA dentro de un

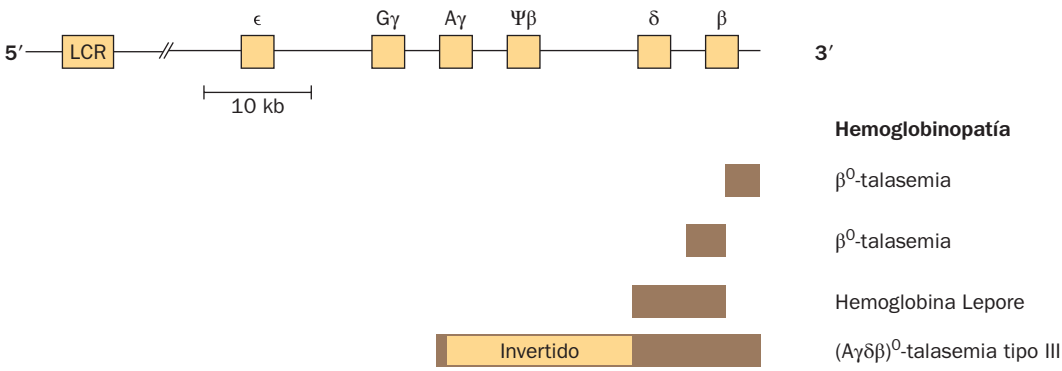


FIGURA 39-8 Representación esquemática del conjunto de genes de β-globina y de las lesiones en algunos trastornos genéticos. El gen de la β-globina se encuentra en el cromosoma 11 en estrecha asociación con los dos genes de la γ-globina y el gen de la δ-globina. La familia de genes β está dispuesta en el orden 5'-ε-Gγ-Aγ-ψβ-δ-β-3'. El *locus* ε se expresa en la vida embrionaria temprana (como $\alpha_2\varepsilon_2$). Los genes γ se expresan en la vida fetal, produciendo hemoglobina fetal (HbF, $\alpha_2\gamma_2$). La hemoglobina adulta consiste en HbA ($\alpha_2\beta_2$) o HbA2 ($\alpha_2\delta_2$). El ψβ es un pseudogén que tiene homología de secuencia con β, pero contiene mutaciones que impiden su expresión. Una región de control de *locus* (LCR, *locus control region*), un potente potenciador situado corriente arriba (5') de estos seis genes, controla la velocidad de transcripción de todo el conjunto de genes de β-globina. Las deleciones (barras oscuras sólidas, más bajas) dentro del *locus* β causan β-talasemia (deficiencia o ausencia [β0] de β-globina). La recombinación meiótica entre δ y β causa la hemoglobina Lepore, y da como resultado la eliminación del DNA y la fusión de la secuencia de codificación δ-β, reduciendo los niveles de HbB (véanse figuras 6-7 y 35-10). Una inversión $(A\gamma\delta\beta)^0$ en esta región (barra más grande) altera la función del gen y también da como resultado la talasemia (tipo III). Cada tipo de talasemia tiende a encontrarse en un cierto grupo de personas, por ejemplo, la inversión de deleción $(A\gamma\delta\beta)^O$ ocurre en personas de la India. Se han mapeado muchas más eliminaciones en esta región, y cada una causa algún tipo de talasemia.

gen, o la inserción o amplificación de un fragmento de DNA dentro de una región codificante o reguladora pueden causar cambios en la expresión genética que dan como resultado la enfermedad. De nuevo, un análisis molecular de las talasemias produce numerosos ejemplos de estos procesos, en particular deleciones, como causas de la enfermedad (figura 39-8). El conjunto de genes de globina parecen particularmente propensos a esta lesión. Las deleciones en el grupo de α-globina, ubicado en el cromosoma 16, causan α-talasemia. Hay una fuerte asociación étnica para muchas de estas eliminaciones, de modo que los europeos del norte, los filipinos, los negros y los pueblos mediterráneos tienen diferentes lesiones, lo que resulta en la ausencia de hemoglobina A y α-talasemia.

Un análisis similar podría hacerse para una serie de otros padecimientos. Las mutaciones puntuales por lo general se definen mediante la secuenciación del gen en cuestión, aunque en ocasiones, si la mutación destruye o crea un sitio de enzima de restricción, la técnica del análisis de fragmentos de restricción puede usarse para identificar la lesión. Las deleciones o inserciones de DNA de más de 50 bp se pueden detectar con frecuencia mediante el procedimiento de Southern blot, mientras que los análisis basados en PCR pueden detectar cambios mucho más pequeños en la estructura del DNA.

Análisis genealógico

La enfermedad de células falciformes otra vez brinda un excelente ejemplo de cómo la tecnología de DNA recombinante se puede aplicar al estudio de enfermedades humanas. La sustitución de T por A en la hebra de DNA molde en el gen de la β-globina cambia la secuencia en la región que corresponde al sexto codón de

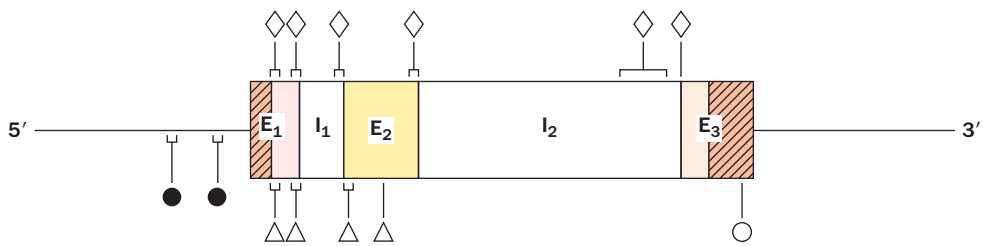


FIGURA 39-9 Mutaciones en el gen de la α-globina que causan β-talasemia. El gen de la β-globina se muestra en la orientación 5' a 3'. Las áreas sombreadas indican las regiones 5' y 3' no traducidas (UTRs, *untranslated regions*). Leyendo desde la dirección 5' a 3', las áreas sombreadas son los exones 1 a 3 (E_1, E_2, E_3) y las áreas blancas entre los exones son intrones 1 (I_1) y 2 (I_2). Las mutaciones que afectan el control de la transcripción (•) se localizan en el DNA de la región flanqueante 5'. Se han identificado y están indicados ejemplos de mutaciones sin sentido (△), mutaciones en el procesamiento de RNA (◇) y mutaciones de corte de RNA (○). En algunas regiones, se han encontrado muchas mutaciones distintas. Estas se indican por el tamaño y la ubicación de los corchetes.

CUADRO 39-5 Alteraciones estructurales del gen de la β-globina

Alteración	Función afectada	Enfermedad
Mutaciones puntuales	Plegamiento de proteínas	Enfermedad de células falciformes
	Control transcripcional	β-talasemia
	Mutaciones sin marco y sin sentido	β-talasemia
	Procesamiento de RNA	β-talasemia
Deleción	Producción de mRNA	β^0-talasemia
		Hemoglobina Lepore
Reordenamiento	Producción de mRNA	β-talasemia tipo III

a

↓
C C T G A G G hebra de codificación
G G A C Ⓣ C C hebra molde
↑

↓
C C T G T G G hebra de codificación
G G A C Ⓐ C C hebra molde

y destruye un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *MstII* (CCTNAGG, indicado por las flechas verticales pequeñas; cuadro 39-1).

Otros sitios *MstII* 5' y 3' de este sitio (**figura 39-10**) no se ven afectados, por lo que se cortarán. Por tanto, la incubación de DNA de individuos normales (AA), heterocigotos (AS) y homocigotos (SS) da como resultado tres patrones diferentes en la transferencia

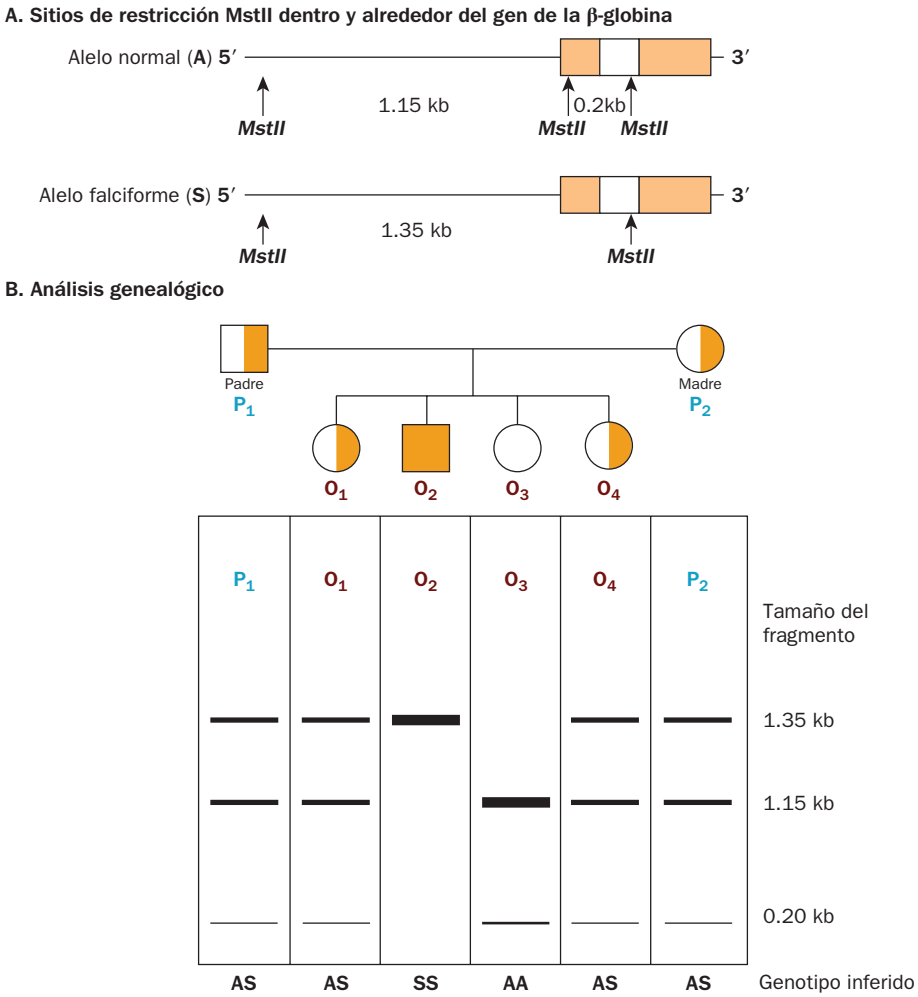


FIGURA 39-10 Análisis genealógico de la enfermedad de células falciformes. La parte superior de la figura (**A**) muestra la primera parte del gen de la β-globina y los sitios de la enzima de restricción *MstII* en los genes de la β-globina de las células normales (A) y falciformes (S). La digestión con la enzima de restricción *MstII* da como resultado fragmentos de DNA de 1.15 y 0.2 kb de longitud en individuos normales. El cambio de T-a-A en individuos con enfermedad de células falciformes suprime uno de los tres sitios *MstII* alrededor del gen de la β-globina, por tanto, se genera un único fragmento de restricción de 1.35 kb de longitud tras la escisión con *MstII*. Esta diferencia de tamaño se detecta fácilmente en una Southern blot. (**B**) El análisis genealógico muestra tres posibilidades para cuatro descendientes O_1, O_2, O_3 y O_4, dados los genotipos heterocigotos parentales (P_1, P_2) (AS): AA, normal (círculo abierto); AS, heterocigotos (círculos medio sólidos, cuadrados medio sólidos); SS, homocigoto (cuadrado sólido). Este enfoque puede permitir el diagnóstico prenatal de la enfermedad de células falciformes (cuadrado al lado del tablero).

de Southern blot (figura 39-10). Esto ilustra cómo se puede establecer una genealogía de DNA usando los principios discutidos en este capítulo. El análisis de genealogía se ha aplicado a un número de enfermedades genéticas y es más útil en las que son causadas por deleciones e inserciones, o en los casos más raros en los que se ve afectado un sitio de escisión por endonucleasas de restricción, como en el ejemplo citado aquí. Tales análisis ahora se ven facilitados por la reacción de PCR, que puede amplificar y, por tanto, proporcionar suficiente DNA para el análisis de sólo unas pocas células nucleadas.

Diagnóstico prenatal

Si se comprende la lesión genética y se dispone de una sonda específica, es posible el diagnóstico prenatal. El DNA de las células recogidas a partir de un pequeño volumen de líquido amniótico (o mediante biopsia de vellosidad coriónica) se puede analizar mediante transferencia de Southern blot, como también se pueden examinar volúmenes mucho más pequeños, si se utilizan análisis basados en PCR. El feto con el patrón de restricción AA en la figura 39-10 no tiene enfermedad de célula falciforme, ni es un portador. Un feto con el patrón SS desarrollará la enfermedad. Las sondas están ahora disponibles para este tipo de análisis de muchas enfermedades genéticas.

Polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción y los SNP

Las diferencias en la secuencia de DNA citadas antes pueden causar variaciones en los sitios de restricción y, por tanto, en la longitud de los fragmentos de restricción. De manera similar, los **SNP** pueden detectarse mediante el método de PCR sensible. Una diferencia heredada en el patrón de digestión con enzimas de restricción (p. ej., una variación de DNA que ocurre en más de 1% de la población general) se conoce como **polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP**, *restriction fragment length polymorphism*). Se han construido extensos mapas de RFLP y SNP del genoma humano. Esto está demostrando su utilidad en el Proyecto de Análisis del Genoma Humano y es un componente importante del esfuerzo por comprender diversas enfermedades de un solo gen y multigénicas. Los RFLP resultan de cambios de una sola base (p. ej., enfermedad de células falciformes) o de deleciones o inserciones (CNV) de DNA en un fragmento de restricción (p. ej., las talasemias) y han demostrado ser herramientas útiles de diagnóstico. Se han encontrado en *loci* genéticos conocidos y en secuencias que no tienen una función conocida, por tanto, los RFLP o los SNP pueden alterar la función del gen o pueden no tener consecuencias biológicas aparentes. Como se mencionó con anterioridad, 80% de los SNP en el genoma de un solo individuo conocido ya se había mapeado de forma independiente a través de los esfuerzos del componente de mapeo de SNP del Proyecto Internacional HapMap y ahora se complementó con la secuenciación genómica.

Los RFLP y los SNP se heredan y se segregan de manera mendeliana. Un uso importante de los SNP/RFLP está en la definición de enfermedades hereditarias en las que se desconoce el déficit funcional. Los SNP/RFLP se pueden emplear para establecer grupos de vinculación, que a su vez, mediante los procesos de análisis genealógicos y **caminata cromosómica**, definirán finalmente el *locus* de la enfermedad. En la caminata cromosómica (**figura 39-11**), se utiliza un fragmento que representa un extremo de un trozo largo de DNA para aislar otro que se superpone, pero que extiende el primero. La dirección de la extensión está determinada por el mapeo de restricción, y el procedimiento se repite de manera secuencial, hasta que se obtiene la secuencia deseada. Las colecciones de DNA genómicos humanos BAC o PAC clonados que se superponen están disponibles desde el punto de vista comercial. Los trastornos ligados al cromosoma X son, en particular, favorables para el abordaje de la caminata cromosómica, ya que sólo se expresa un único alelo. Por tanto, 20% de los RFLP definidos está en el cromosoma X y se ha determinado un mapa de ligamiento completo (y secuencia genómica) de este cromosoma. El gen para el trastorno ligado a X, la distrofia muscular tipo Duchenne, se encontró utilizando RFLP. Igualmente, el defecto en la enfermedad de Huntington se localizó en la región terminal del brazo corto del cromosoma 4, y el defecto que causa la enfermedad renal poliquística está relacionado con el *locus* de la α-globina en el cromosoma 16. La secuenciación genómica depende de esta "superposición" entre fragmentos de DNA secuenciados para ensamblar secuencias de DNA genómicas completas.

Polimorfismos de DNA microsatélite

Las unidades cortas (2-6 bp) heredadas y repetidas en tándem de DNA se producen, aproximadamente, de 50 000 a 100 000 veces en el genoma humano (véase capítulo 35). Debido a que ocurren con

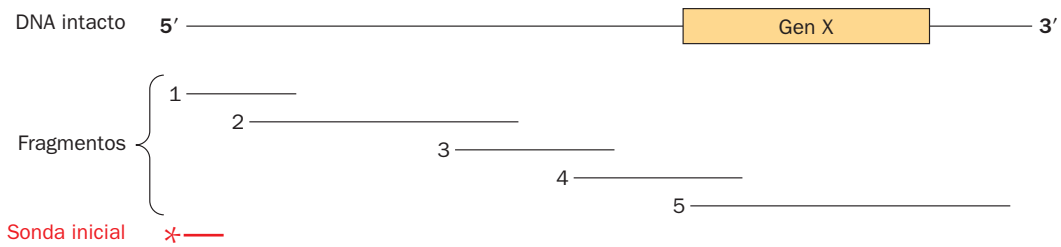


FIGURA 39-11 Técnica de la caminata cromosómica. El gen X debe aislarse de un gran fragmento de DNA. No se conoce la ubicación exacta de este gen, pero está disponible una sonda (*_____) dirigida contra un fragmento de DNA (que se muestra en el extremo 5' en esta representación), como también una genoteca de clones que contiene una serie de fragmentos de insertos de DNA superpuestos. En aras de la simplicidad, sólo se muestran cinco de estos. La sonda inicial se hibridará sólo con clones que contienen el fragmento 1, que luego puede aislarse y usarse como sonda para detectar el fragmento 2. Este procedimiento se repite hasta que el fragmento 4 se hibrida con el fragmento 5, que contiene la secuencia completa del gen X. Desde el punto de vista conceptual, se usa un método similar de superposición de secuencias de DNA para ensamblar las lecturas de secuencias contiguas generadas por secuenciación NGS directa/de alto rendimiento de fragmentos de DNA genómico.

mayor frecuencia, y en vista de la aplicación rutinaria de los métodos de PCR sensible, están reemplazando a los RFLP como *loci* marcadores para diversas búsquedas de genomas.

RFLP y VNTR en medicina forense

Las unidades de **números variables de repeticiones en tándem (VNTR, *variable numbers of tandemly repeated*)** son un tipo común de "inserción" que da como resultado un RFLP. Los VNTR pueden heredarse, en cuyo caso son útiles para establecer una asociación genética con una enfermedad en una familia o parientes, o pueden ser únicos para un individuo y, por consiguiente, servir como huella digital molecular de esa persona.

Secuenciación directa de DNA genómico

Como se señaló antes, los avances recientes en la tecnología de secuenciación de DNA, las llamadas plataformas de próxima generación (NGS, *next-generation*) o de secuenciación de alto rendimiento (HTS, *high-throughput sequencing*), han reducido drásticamente el costo por base de la secuenciación de DNA. La secuencia inicial del genoma humano cuesta alrededor de $ 350 000 000 (Estados Unidos). Se estima que el costo de secuenciar el mismo genoma humano diploide de 3×10^9 bp utilizando las nuevas plataformas NGS es <0.03% del original. Muy recientemente, la tecnología se ha desarrollado para permitir la secuenciación del genoma humano por $1 000 (Estados Unidos). Esta significativa reducción en el costo ha estimulado varias iniciativas internacionales para secuenciar los genomas completos de miles de individuos de diversos orígenes raciales y étnicos, con el fin de determinar la verdadera extensión de los polimorfismos de DNA/genoma presentes en la población humana. La cornucopia resultante de la información genética, y el costo cada vez menor de la secuenciación del DNA genómico, está aumentando de manera sustancial la capacidad para diagnosticar y, en última instancia, tratar la enfermedad humana. Es obvio que, cuando la secuenciación del genoma personal se vuelva algo común, se producirán cambios radicales en la práctica de la medicina, porque las terapias finalmente se adaptarán a la composición genética exacta de cada individuo.

Terapia génica y biología de células madre

Las enfermedades causadas por la deficiencia de un solo producto génico (cuadro 39-4) son todas susceptibles en teoría de terapia de reemplazo. La estrategia es clonar una copia normal del gen relevante (p. ej., el gen que codifica la adenosina desaminasa) en un vector que se incorporará fácilmente al genoma de una célula huésped. Las células precursoras de la médula ósea se están investigando para este fin, porque se presume que se reasentarán en la médula ósea y se replicarán allí. El gen introducido comenzaría a dirigir la expresión de su producto proteico, y esto corregiría la deficiencia en la célula huésped.

Como una alternativa al "reemplazo" de genes defectuosos para curar enfermedades humanas, muchos científicos están investigando la factibilidad de identificar y caracterizar células madre pluripotentes que tienen la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula en el cuerpo. Los resultados recientes en este campo han demostrado que las células somáticas humanas adultas se pueden convertir, con facilidad, en aparentes **células madre pluripotentes inducidas** (**iPSCs**, *induced pluripotent stem cells*) por transfección con cDNA que codifican un puñado de factores de transcripción que se unen al DNA. Estos y otros desarrollos nuevos en los campos de la terapia génica y la biología de células madre prometen nuevos tratamientos potenciales para curar enfermedades humanas. Finalmente, la generación de iPSC a partir de células enfermas de pacientes también ofrece la oportunidad de crear auténticos modelos basados en células humanas, para estudios de laboratorio de las bases moleculares de padecimientos de los seres humanos.

Animales transgénicos

La terapia de reemplazo de genes de la célula somática descrita con anterioridad obviamente no se transmitirá a la descendencia. Se han ideado otras estrategias para alterar las líneas de células germinales, pero se han probado sólo en animales de experimentación. Un cierto porcentaje de genes inyectados en un óvulo de ratón fertilizado se incorporará en el genoma y se encontrará tanto en células somáticas como en células germinales. Se han creado cientos de animales transgénicos, que son útiles para el análisis de los efectos específicos de los tejidos sobre la expresión génica y los efectos de la sobreproducción de productos genéticos (p. ej., los del gen de la hormona del crecimiento u oncogenes), así como en el descubrimiento de genes implicados en el desarrollo, un proceso que hasta ahora ha sido difícil de estudiar en mamíferos. El enfoque transgénico se ha utilizado para corregir una deficiencia genética en ratones. Los óvulos fertilizados obtenidos de ratones con hipogonadismo genético se inyectaron con DNA que contenía la secuencia codificante de la proteína precursora de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH, *gonadotropin-releasing hormone*). Este gen se expresaba y regulaba normalmente en el hipotálamo de un cierto número de ratones resultantes, y estos animales eran, en todos los aspectos, normales. Su descendencia tampoco mostró evidencia de deficiencia de GnRH. Esto es, por tanto, evidencia de expresión de células somáticas del transgén y de su mantenimiento en células germinales.

Regulación de genes dirigida por interrupción o *knockout*, *knockin*, edición y expresión controlada

Diversos avances técnicos han permitido la modificación precisa y específica de genes de mamíferos. Los métodos exactos utilizados para la ingeniería genética de genomas de mamíferos han evolucionado desde procesos tediosos y de baja eficacia basados en selecciones de fármacos positivas y negativas y recombinación homóloga (*knockout/knockin*), hasta el sistema CRISPR-Cas9 descrito antes. El objetivo de todos estos métodos es, en última instancia, generar una familia de variantes genéticas de un gen de interés que sea a) un alelo de pérdida de función nulo o completo, b) alelos recesivos de pérdida de función, y c) de manera ideal, alelos de ganancia de función dominantes. Estas alteraciones genéticas se generan en células madre pluripotentes, que finalmente permiten la introducción y propagación en organismos modelo completos (moscas, peces, gusanos, roedores, etc.). Tener las tres variantes genéticas permite analizar con precisión el mecanismo de acción de cualquier gen. Sin embargo, la complicación del análisis genético de muchos genes radica en el hecho de que su función(es) es esencial para la viabilidad. Para evitar este problema, se deben generar variantes genéticas de tejido específicas o de tipo celular. Este obstáculo se ha superado mediante el uso de potenciadores específicos de células y tejidos que pueden impulsar la expresión condicional (es decir, controlada de manera experimental) de las recombinasas blanco (o sea, CRE-lox) y/o nucleasa (CRISPR-Cas9) que generan los genes alterados, alelos nulos o de pérdida o ganancia de función.

De manera alternativa, los alelos de pérdida de función seleccionados se pueden generar a través de una expresión equivalente de siRNA para destruir la producción de un producto génico específico. En conjunto, estos métodos permiten sofisticadas pruebas genéticas y bioquímicas de la función de los genes y brindan a los científicos la posibilidad de investigar la estructura y función de los genes de los mamíferos en contextos fisiológicos. Se han obtenido, y se seguirán obteniendo, grandes aportes mecanicistas moleculares sobre la etiología molecular de las enfermedades humanas a través de estos y otros enfoques bioquímicos. ¡Se esperan tiempos emocionantes!

Perfil de RNA y proteínas, y mapeo de interacción proteína-DNA

La revolución "-ómica" de la última década ha culminado con la determinación de la secuencia de nucleótidos completa de decenas de miles de genomas, incluidos los de levaduras gemantes y de fisión, numerosas bacterias, la mosca de la fruta, el gusano *Caenorhabditis elegans*, las plantas, el ratón, la rata, el pollo, el mono y, sobre todo, los humanos. Los genomas adicionales están siendo secuenciados a un ritmo acelerado. La disponibilidad de toda esta información sobre la secuencia de DNA, junto con los avances de ingeniería, ha llevado al desarrollo de varias metodologías revolucionarias, la mayoría de las cuales se basan en la **tecnología de microarray de alta densidad** y las plataformas de **secuenciación NGS**. En el caso de los microarray, ahora es posible depositar miles de secuencias de DNA específicas, conocidas y definidas en un portaobjetos de vidrio de microscopio u otro soporte inmóvil, en el espacio de unos pocos centímetros cuadrados. Mediante el acoplamiento de tales microarray de DNA con la detección altamente sensible de sondas de ácido nucleico marcadas con fluorescencia híbridas derivadas de mRNA, los investigadores pueden generar de manera muy rápida y precisa perfiles de expresión génica (p. ej., contenido de mRNA celular específico) a partir de muestras de células y tejidos de 1g o menos. Por tanto, toda la **información de transcriptoma** (la colección completa de RNA celulares) para tales fuentes de células o tejidos puede obtenerse de manera muy fácil en sólo unos pocos días. En el caso de la secuenciación de NGS, los mRNA se convierten en cDNA usando transcripción inversa, y estos cDNA se amplifican y se secuencian de manera directa; este método se denomina **RNA-seq**. Estos métodos permiten la descripción cuantitativa de todo el transcriptoma. Informes recientes en la literatura han utilizado RNA-seq para describir el transcriptoma de células individuales, y cuando se combina con perfiles de ribosomas de alta sensibilidad (véase a continuación) y proteómica basada en espectrometría de masas (véase a continuación), define con seguridad los perfiles de expresión génica en el mRNA y niveles de proteína.

Los avances metodológicos recientes, como la secuenciación de precisión Run-On (**PRO-seq**, *precision RunOn sequencing*) y la secuenciación de transcrito en alargamiento nativo (**NET-seq**, *native elongating transcript sequencing*) permiten la secuenciación del RNA dentro de la elongación de los complejos ternarios de RNA polimerasa-DNA-RNA, permitiendo descripciones a nivel de nucleótidos, de todo el genoma, de transcripción activa en células vivas. Un método paralelo denominado **perfil de ribosomas** permite a los investigadores utilizar la secuenciación de DNA de alto rendimiento para determinar tanto la identidad como el número de mRNA celulares en el proceso de traducción activa, definiendo de este modo el proteoma celular. La información del transcriptoma permite *predecir* de manera cuantitativa la colección de proteínas que podrían expresarse en una célula, tejido u órgano particular en estados normales y de enfermedad, en función de los mRNA presentes en esas células, mientras que el perfil de ribosomas permite la medición cuantitativa del proteoma celular *real*.

Como complemento de los métodos de generación de perfiles de expresión de genoma completo de muy alto rendimiento descritos anteriormente, se encuentra el desarrollo de métodos para mapear la ubicación o la ocupación de proteínas específicas unidas a secuencias discretas de DNA dentro de células vivas. Este método, ilustrado en la **figura 39-12**, se denomina **inmunoprecipitación de cromatina (ChIP**, *chromatin immunoprecipitation*). Las proteínas se reticulan *in situ* en células o tejidos, la cromatina celular se aísla, se corta y los complejos de proteína-DNA reticulados específicos se purifican usando anticuerpos que reconocen una proteína particular o la isoforma de la proteína. El DNA unido a esta proteína se recupera y amplifica mediante PCR y se analiza a través de imágenes de electroforesis en gel, hibridación de microarray (**ChIP-chip**) o secuenciación directa. Hay dos versiones de la lectura del ensayo de secuenciación de DNA. En la primera, el DNA inmunopurificado se somete de manera directa a NGS/secuenciación de DNA de alto rendimiento (**ChIP-seq)**, en la segunda, el complejo de DNA de proteína reticulado e inmunopurificado se trata con exonucleasas, para eliminar secuencias de DNA reticuladas que no están en contacto íntimo con la proteína de interés; esto se denomina **ChIP-exo**. En conjunto, los métodos ChIP-chip y ChIP-seq permiten a los investigadores identificar las ubicaciones de una sola proteína en todo el genoma a lo largo de todos los cromosomas. El ChIP-exo tiene la ventaja adicional de permitirles a los investigadores mapear la ocupación *in vivo* de proteínas a una resolución de un solo nivel de nucleótido. Finalmente, se han desarrollado métodos para alta sensibilidad, espectrometría de masas de alto rendimiento de metabolitos (**metabolómica**), varias moléculas pequeñas (lípidos, **lipidómica**, carbohidratos, **glucómica**, etc.) y muestras de proteínas complejas (**proteómica**). Los nuevos métodos de espectrometría de masas permiten a los científicos identificar cientos o miles de proteínas en muestras complejas extraídas de un número muy pequeño de células (<1 g). Dichos análisis ahora se pueden usar para cuantificar las cantidades relativas de proteínas en dos muestras, así como el nivel de ciertas PTM, como la fosforilación, la acetilación, etc. y con el uso de anticuerpos específicos, definir las interacciones específicas proteína-proteína. Esta información crucial les dice a los estudiosos cuál de los muchos mRNA detectados en los estudios de mapeo de transcriptoma se están traduciendo en proteína, generalmente el último dictador del fenotipo.

También se han ideado nuevos medios genéticos para identificar las interacciones proteína-proteína y la función de la proteína. El *knockdown* sistemático de la expresión génica del genoma completo que utiliza siRNA, los análisis sintéticos de interacción genética letal, o más recientemente, el *knockdown* de CRISPR-Cas9 se han utilizado para evaluar la contribución de genes individuales a una variedad de procesos en sistemas modelo (levadura, gusanos y moscas) y células de mamífero (humano y ratón). Se han identificado mapeos de red específicas de las interacciones proteína-proteína en todo el genoma, utilizando variantes de alto rendimiento de la prueba de **interacción de dos híbridos** (**figura 39-13**). Este método simple, pero potente, se puede realizar en células de bacterias, levaduras o metazoos, y permite la detección de interacciones específicas proteína-proteína en células vivas. Los experimentos de reconstrucción indican que las interacciones proteína-proteína con

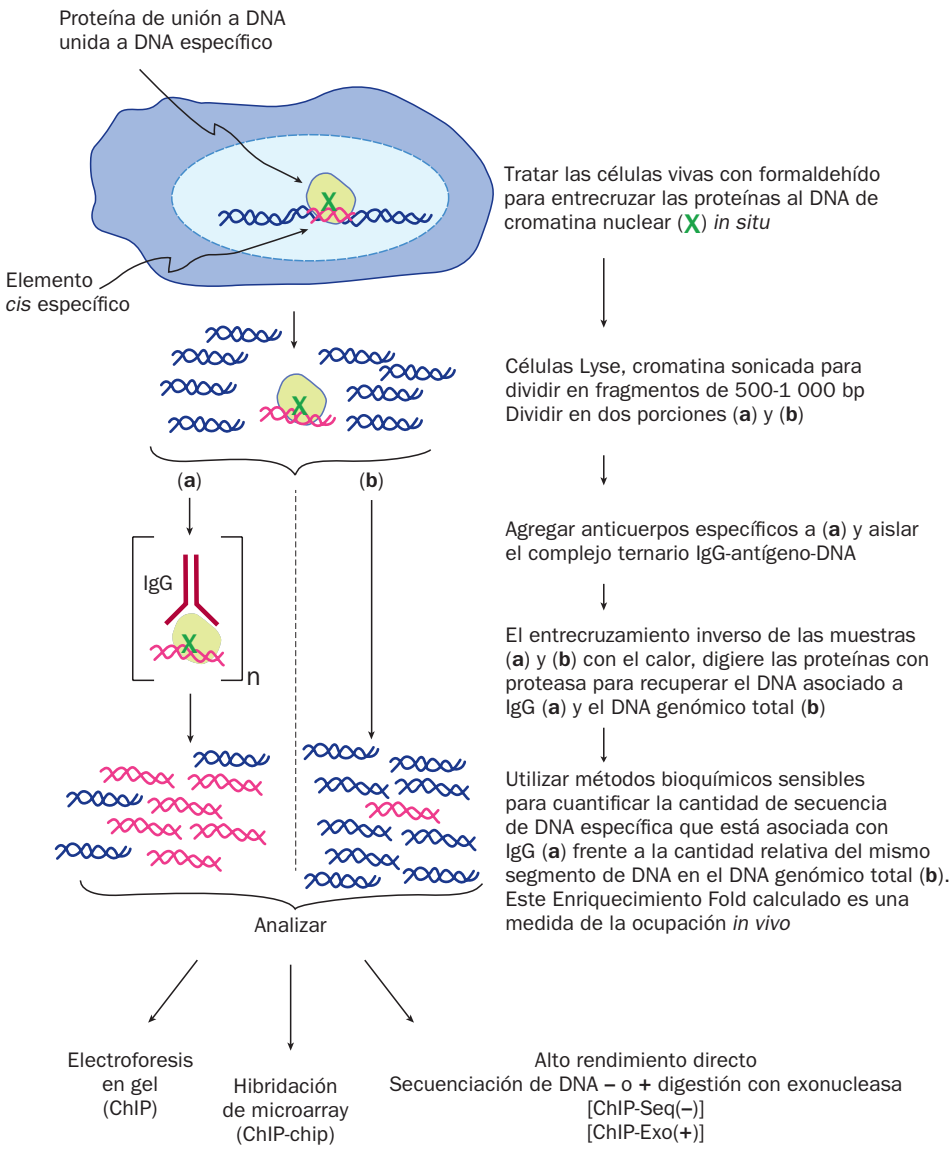


FIGURA 39-12 Esquema de la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Este método permite la localización precisa de una proteína particular (o proteína modificada, si está disponible un anticuerpo apropiado, p. ej., n = histonas antifosforiladas o acetiladas, factores de transcripción, etc.) en un elemento de secuencia particular en células vivas. Dependiendo del método utilizado para analizar el DNA inmunopurificado, se puede obtener información cuantitativa o semicuantitativa, a una resolución cercana al nivel de nucleótidos. La ocupación de DNA de proteína puede puntuarse en todo el genoma de dos maneras. Primero, mediante ChIP-chip, un método que utiliza una lectura de hibridación. En ChIP-chip, el DNA genómico total se marca con un fluoróforo particular y el DNA inmunopurificado se marca con un fluoróforo espectralmente distinto. Estos DNA marcados de manera diferencial se mezclan e hibridan con microarray "chips" (portaobjetos de microscopio) que contienen fragmentos de DNA específicos, o más comúnmente ahora, oligonucleótidos sintéticos de 50 a 70 nucleótidos de longitud. Estos oligonucleótidos específicos de genes se depositan y se unen de manera covalente a posiciones/coordenadas X, Y conocidas y predeterminadas en el portaobjetos. Los DNA marcados se hibridan, los portaobjetos se lavan y la hibridación con cada sonda de oligonucleótido específica de gen se puntúa usando exploración láser diferencial y fotodetección sensible a resolución de micrón. Las intensidades de la señal de hibridación se cuantifican, y la relación de señales de DNA IP/DNA genómico se usa para puntuar los niveles de ocupación. El segundo método, denominado ChIP-seq, secuencia de manera directa los DNA inmunopurificados, utilizando los métodos de secuenciación de NGS. Se muestran dos variantes de ChIP-seq: ChIP-seq "estándar" y ChIP-exo. Estos dos enfoques difieren en su capacidad para resolver y mapear las ubicaciones de la proteína unida en el DNA genómico. La resolución estándar de ChIP-seq es de 50 a 100 nt de resolución, mientras que ChIP-exo tiene una resolución de casi un solo nivel nt. Ambos enfoques se basan en algoritmos bioinformáticos eficientes para tratar con los grandes conjuntos de datos que se generan. Las técnicas ChIP-chip y ChIP-seq proporcionan una medida (semi) cuantitativa de la ocupación de proteínas *in vivo*. Aunque no han sido descritos aquí, métodos similares denominados inmunoprecipitación de RNA (RIP, *RNA immunoprecipitation*) o reticulación e inmunoprecipitación de proteína-RNA (CLIP, *cross-linking protein-RNA and immunoprecipitation*), que difieren sobre todo en el método de entrecruzamiento de proteína-RNA, pueden puntuar la unión *in vivo* de proteínas específicas a especies de RNA específicas (normalmente mRNA, aunque cualquier especie de RNA puede analizarse mediante estas técnicas).

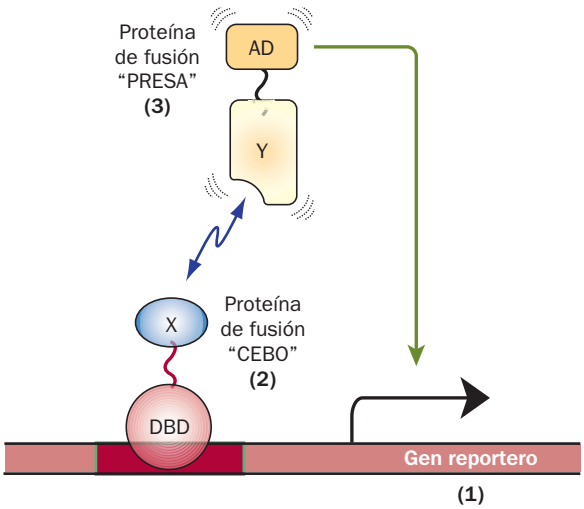


FIGURA 39-13 Descripción general de dos sistemas híbridos para identificar y caracterizar las interacciones proteína-proteína. Se muestran los componentes básicos y la operación de los dos sistemas híbridos, originalmente ideados por Fields y Song (*Nature* 1989;340:245-246) para funcionar en el sistema de levadura de panadería. (1) Un gen reportero, ya sea un marcador seleccionable (es decir, un gen que confiere crecimiento prototrófico en medios selectivos, o que produce una enzima para la que existe un análisis colorimétrico de colonias, como β-galactosidasa) que se expresa únicamente cuando se une un factor de transcripción corriente arriba de un potenciador unido a *cis* (barra roja oscura). (2) Una proteína de fusión "cebo" (DBD-X) producida a partir de un gen quimérico que expresa un dominio de unión a DNA modular (DBD, a menudo derivado de la proteína Gal4 de levadura o la proteína bacteriana Lex A, ambas proteínas de unión a DNA de alta especificidad, de alta afinidad) fusionada en el marco de una proteína de interés, aquí X. En dos experimentos híbridos, uno está probando si alguna proteína puede interactuar con la proteína X. La proteína presa X puede fusionarse en su totalidad o, a menudo, de manera alternativa, sólo una parte de la proteína X se expresa en marco con el DBD. (3) Proteína "presa" (Y-AD), que representa una fusión de una proteína específica fusionada en el marco con un dominio de activación transcripcional (AD, a menudo derivado de la proteína VP16 activadora del virus del herpes simple o la proteína GAL4 de la levadura). Este sistema sirve como una prueba útil de las interacciones proteína-proteína entre las proteínas X y Y porque, en ausencia de un transactivador funcional que se una al potenciador indicado, no se produce la transcripción del gen reportero (es decir, véase figura 38-16). Por tanto, se observa la transcripción sólo si se produce la interacción proteína X-proteína Y, lo que lleva una AD funcional a la unidad de transcripción unida a *cis*, en este caso activando la transcripción del gen reportero. En este escenario, la proteína DBD-X sola no puede activar la transcripción del reportero, porque el dominio X fusionado a DBD no contiene una AD. De forma similar, la proteína Y-AD sola no puede activar la transcripción del gen reportero, porque carece de un DBD para dirigir la proteína Y-AD al gen promotor-potenciador-reportero. Unicamente cuando ambas proteínas se expresan en una sola célula y se unen al potenciador y, a través de las interacciones proteína-proteína DBD-X-Y-AD, regeneran una "proteína" binaria transactivadora funcional, la transcripción del gen reportero resulta en activación y síntesis de mRNA (línea verde desde AD hasta el gen reportero).

afinidades de unión de $>K_d$ ~10^{-6} mol/L pueden detectarse fácilmente con este método. Juntas, estas tecnologías proporcionan herramientas poderosas con las que analizar las complejidades de la biología humana.

LA BIOLOGÍA DE SISTEMAS TIENE COMO OBJETIVO INTEGRAR LA INUNDACIÓN DE DATOS -ÓMICOS CON EL FIN DE DESCIFRAR PRINCIPIOS REGULADORES BIOLÓGICOS FUNDAMENTALES

Las técnicas de microarray, secuenciación de DNA genómico de alta capacidad de procesamiento, RNA-seq, perfilado de ribosomas, espectrometría de masas, ChIP-seq/ChIP-exo, deleción genética de doble híbrido, el *knockdown* genético y las pantallas sintéticas letales, junto con los experimentos de identificación de metabolitos y proteínas por espectrometría de masas han llevado a la generación de enormes cantidades de datos. El análisis adecuado de datos, la gestión y la interpretación de la avalancha de información que se desprende de tales estudios se han basado en la aplicación de métodos estadísticos y algoritmos novedosos para analizar o "extraer" y visualizar esos grandes conjuntos de datos. Esto ha llevado al desarrollo del campo de la **bioinformática** (véase también capítulo 11). Estas nuevas tecnologías, además de la gran cantidad de datos experimentales, han llevado también al progreso en el terreno de la **biología de sistemas**, una disciplina cuyo objetivo es analizar de manera cuantitativa e integrar este cúmulo de información biológicamente importante, con el fin de obtener nuevos conocimientos sobre la biología y sus manifestaciones patológicas. Los trabajos futuros en la intersección de la bioinformática, la ingeniería, la biofísica, la genética, la transcripción, la proteína, el perfilado de proteína PTM y la biología de sistemas revolucionarán la comprensión de la fisiología, la medicina y, en última instancia, la salud humana.

RESUMEN

- En la clonación de DNA, un segmento particular de DNA se sintetiza directamente o se elimina de su entorno normal mediante PCR o una de las muchas endonucleasas dirigidas por DNA. Dicho DNA se liga a continuación en un vector en el que el segmento de DNA puede amplificarse individualmente y producirse en abundancia.
- La manipulación del DNA para cambiar su secuencia, la llamada ingeniería genética, es un elemento clave en la clonación (p. ej., la construcción de moléculas químericas) y también se puede utilizar para estudiar la función de un determinado fragmento de DNA y analizar cómo los genes están regulados.
- Ahora se puede aplicar una variedad de técnicas muy sensibles al aislamiento y la caracterización de genes y a la cuantificación de productos génicos tanto en modos estáticos (es decir, de equilibrio) como dinámicos (cinéticos). Estos métodos permiten la identificación de los genes responsables de las enfermedades y el estudio de cómo los genes defectuosos/regulación de genes causa enfermedades.
- Los genomas de mamíferos ahora pueden diseñarse con precisión para *knockin* (agregar/reemplazar un gen), *knockout* (eliminar o

inactivar) y/o manipular de forma activa y condicional genes específicos utilizando miRNA y SiRNA, así como enzimas nuevas que editan genomas (recombinasas) y sistemas de enzimas RNA (CRISPR-Cas).

REFERENCIAS

Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, *et al.* The 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012;491:56–65. [véase también: http://www. internationalgenome.org].

Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Konermann S, *et al*. C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. *Science* 2016;353(6299):aaf5573.

Baltimore D, Berg P, Botchan M, *et al*. Biotechnology. A prudent path forward for genomic engineering and germline gene modification. *Science* 2015;348:36-38.

Churchman LS, Weissman JS. Nascent transcript sequencing visualizes transcription at nucleotide resolution. *Nature* 2011;469:368-373.

Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N England J Med* 2015;372:793-795.

Deng Q, Ramsköld D, Reinius B, *et al*. Single-cell RNA-seq reveals dynamic, random monoallelic gene expression in mammalian cells. *Science* 2014;343:193-196.

Gandhi TK, Zhong J, Mathivanan S, *et al*. Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast, worm and fly interaction datasets. *Nat Genet* 2006;38:285-293.

Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, *et al.* Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 2010;329:52-56.

Green MR, Sambrook J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* 4th ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2012.

Horvath P, Barrangou R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science* 2010;327:167-170.

Ingolia TN. Ribosome footprint profiling of translation throughout the genome. *Cell* 2016;165:22-33.

Kwak H, Fuda NJ, Core LJ, Lis JT. Precise maps of RNA polymerase reveal how promoters direct initiation and pausing. *Science* 2013;339:950-953.

Liu SJ, Horlbeck MA, Cho SW, *et al*. CRISPRi-based genome-scale identification of functional long nondoding RNA loci in human cells. *Science* 2017;355:355(6320).

Martin JB, Gusella JF. Huntington's disease: pathogenesis and management. *N Engl J Med* 1986;315:1267-1276.

Morgan MA, Shilatifard A. Chromatin signatures of cancer. *Genes Dev* 2015;29:238-249.

Myers RM, Stamatoyannopoulos J, Snyder M, *et al*. A user's guide to the encyclopedia of DNA elements (ENCODE). *PLoS Biol* 2011;9:-e1001046.

Rhee HS, Pugh BF. Comprehensive genome-wide protein-DNA interactions detected at single-nucleotide resolution. *Cell* 2011;147:1408-1419.

Sampson TR, Weiss DS. Exploiting CRISPR/Cas systems for biotechnology. *Bioessays* 2014;36:34-38.

Sudmant PH, Rausch T, Gardner EJ, *et al*. An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature* 2015;526:75-81.

Tajuddin SM, Schick UM, Eicher JD, *et al*. Large-scale exome-wide association analysis identifies loci for white blood cell traits and pleotropy with immune-mediated diseases. *Am J Hum Genet* 2016;99:22-39.

Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, *et al.* Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;-131:861-872.

The 1000 Genome Project Consortium: A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.

Wang L, Wheeler DA. Genomic sequencing for cancer diagnosis and therapy. *Annu Rev Med* 2014;65:33-48.

Weatherall DJ. A journey in science: early lessons from the hemoglobin field. *Mol Med* 2014;20:478-485.

Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, *et al*. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 2008;-452:872-876.

GLOSARIO

ARS: Secuencia de replicación autónoma; el origen de la replicación en la levadura.

Autorradiografía: Detección de moléculas radiactivas (p. ej., DNA, RNA y proteína) mediante la visualización de sus efectos en la película fotográfica o de rayos X.

Bacteriófago: Virus que infecta a una bacteria.

CAGE: Análisis de capucha o casquete de la expresión génica. Un método que permite la captura selectiva, la amplificación, la clonación y la secuenciación de mRNA a través de la estructura capucha o casquete 5′.

cDNA: Molécula de DNA de una sola hebra que es complementaria de una molécula de mRNA y se sintetiza a partir de ella mediante la acción de la transcriptasa inversa.

ChIP, inmunoprecipitación de cromatina: Técnica que permite determinar la localización exacta de una proteína particular, o isoforma de proteína, en cualquier ubicación genómica particular en una celda viva. El método se basa en el entrecruzamiento de células vivas, la ruptura celular, la fragmentación de DNA y la inmunoprecipitación con anticuerpos específicos que purifican la proteína cognada enlazada de manera covalente a DNA. Los entrecruzamientos se invierten, el DNA asociado se purifica y las secuencias específicas que se purifican se miden usando cualquiera de los diferentes métodos (véanse las siguientes tres entradas del glosario a continuación).

ChIP-chip, inmunoprecipitación de cromatina ensayada mediante lectura de hibridación de chip de microarray: Método basado en hibridación que utiliza técnicas de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) para mapear, en todo el genoma, los sitios de unión *in vivo* de proteínas específicas dentro de la cromatina en células vivas. La unión de la secuencia se determina hibridando muestras de DNA ChIP marcadas con fluorescencia en microarray (matriz).

Chip-exo, inmunoprecipitación de cromatina ensayada mediante lectura de secuenciación NGS/profunda después del tratamiento de complejos de proteína-DNA inmunoprecipitados con exonucleasas: Una variación en ChIP-seq (véase la siguiente entrada) que permite la precisión a nivel de nucleótidos en el mapeo y la descripción de elementos *cis* del DNA unidos por una proteína particular.

ChIP-seq, inmunoprecipitación de cromatina ensayada a través de una lectura de secuenciación de NGS: Ubicación de unión de DNA genómico en un ChIP determinado por secuenciación de alto rendimiento, en lugar de hibridación en microarray.

CLIP: método que usa la reticulación UV para inducir la unión covalente de proteínas distintas a RNA específicos *in vivo*: Los RNA que están unidos a proteínas pueden purificarse con posterioridad, a partir de lisados celulares, mediante inmunoprecipitación y subsiguiente secuenciación. Una variante recientemente desarro-

llada de CLIP, denominada PAR-CLIP, utiliza nucleótidos fotoactivables para mejorar la eficacia del entrecruzamiento.

Clona: Gran cantidad de organismos, células o moléculas que son idénticas a un único organismo parental, célula o molécula.

Código epigenético: Patrones de modificación del DNA cromosómico (es decir, la metilación de citosina) y modificaciones postraduccionales de histona nucleosomal. Estos cambios en el estado de modificación pueden conducir a alteraciones drásticas en la expresión genética. Notablemente, sin embargo, la secuencia de DNA subyacente real involucrada no cambia.

Cósmido: Plásmido en el que se han insertado las secuencias de DNA del bacteriófago lambda que son necesarias para el empaquetamiento del DNA (sitios λ *cos*); esto permite que el DNA del plásmido se empaquete *in vitro*.

CRISPER/Cas9: "Sistema inmune" procariota que confiere resistencia a los genes externos del bacteriófago. Este sistema proporciona una versión bacteriana de la inmunidad adquirida. El RNA derivado del espaciador en CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*), repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente espaciadas entre sí), se combina con la nucleasa Cas9 para dirigirse y escindir específicamente el DNA del fago invasor, inactivando así estos genomas invasores. Esto protege eficazmente a la bacteria de la infección y lisis del fago productivo. Una variante de CRISPR-Cas9 que utiliza proteínas relacionadas y guía a los RNA para dirigirse a RNA específicos con motivo de la degradación es catalizada por el sistema bacteriano C2c2.

DNA de extremo pegajoso: Hebras únicas complementarias de DNA que sobresalen de los extremos opuestos de un DNA dúplex o de los extremos de diferentes moléculas dúplex (véase también DNA de extremos romos, más arriba).

DNA de extremos romos: Dos hebras de un DNA dúplex que tienen extremos que están alineados entre sí.

DNA recombinante: DNA alterado que resulta de la inserción, por medios enzimáticos o químicos, de una secuencia de desoxinucleótidos no presente previamente en una molécula de DNA existente.

Empalme: Eliminación de intrones de RNA acompañada de la unión de sus exones.

Endonucleasa: Una enzima que escinde enlaces internos en DNA o RNA.

Enzima de restricción: Endonucleasa de DNA que causa la escisión de ambas hebras de DNA en sitios altamente específicos dictados por la secuencia de bases.

Espliceosoma: Complejo macromolecular responsable del precursor del empalme de mRNA. El espliceosoma consiste en, al menos, cinco RNA nucleares pequeños (snRNA; U1, U2, U4, U5 y U6) y muchas proteínas.

Escinucleasa: Nucleasa de escisión implicada en la reparación del DNA por intercambio de nucleótidos.

Exoma: Secuencia de nucleótidos del complemento completo de los exones de mRNA expresados en una célula, tejido, órgano u organismo particular. El exoma difiere del transcriptoma en que representa la colección completa de transcripciones del genoma.

Exón: Secuencia de un gen que está representado (expresado) como mRNA (u otro RNA maduro, completamente procesado).

Exonucleasa: Enzima que escinde los nucleótidos de los extremos 3' o 5' del DNA o el RNA.

FISH: Hibridación fluorescente *in situ*, un método utilizado para mapear la ubicación de secuencias de DNA específicas dentro de núcleos fijos.

Genoteca: Colección de fragmentos clonados que representan, en conjunto, todo el genoma. Las genotecas pueden ser DNA genómico (en el que se representan tanto los intrones como los exones) o cDNA (en el que sólo se representan los exones).

Hibridación: Reasociación específica de hebras complementarias de ácidos nucleicos (DNA con DNA, DNA con RNA o RNA con RNA).

Horquilla: Estiramiento de doble hélice formado por pares de bases entre secuencias complementarias vecinas de una sola hebra de DNA o RNA.

Huella: DNA (o RNA, véase el perfilado del ribosoma a continuación) con la unión de proteínas es resistente a la digestión por enzimas DNasa (o RNasa). Cuando se realiza una reacción de secuenciación usando dicho DNA (o RNA), se detectará un área protegida, que representa la "huella" de la proteína unida, porque las nucleasas no pueden escindir el DNA (o RNA) directamente unido por la proteína.

Inserto: Longitud adicional de pares de bases en el DNA, generalmente introducida por los métodos de la tecnología de DNA recombinante.

Intrón: Secuencia de un gen que codifica mRNA que se transcribe, pero se escinde antes de la traducción. Los genes tRNA también pueden contener intrones.

Ligadura: Unión catalizada por enzimas en el enlace fosfodiéster de dos tramos de DNA o RNA en uno; las enzimas respectivas son DNA y RNA ligasas.

LÍNEAS: Secuencias repetidas largas intercaladas.

miRNA: MicroRNA, especies de RNA de 21 a 22 nucleótidos de longitud derivadas principalmente de unidades de transcripción de RNA polimerasa II, mediante procesamiento de RNA. Estos RNA desempeñan un papel crucial en la regulación de los genes al alterar la función del mRNA.

Molécula quimérica: Molécula (p. ej., DNA, RNA y proteína) que contiene secuencias derivadas de dos especies diferentes.

NET-seq, secuenciación de elongación nativa: Análisis de todo el genoma de los extremos 3' de la cadena naciente de mRNA eucariota mapeados a una resolución de nivel de nucleótidos. Los complejos de elongación de RNA polimerasa II se capturan por inmunopurificación con anticuerpos antiPol II, y los RNA nacientes que contienen un grupo 3'OH libre se etiquetan por ligación con un enlazador de RNA y, posteriormente, se amplifican mediante PCR y se someten a secuenciación NGS.

Electrotransferencia Northern: Método para transferir RNA de una agarosa o gel de poliacrilamida a un filtro de nitrocelulosa o nylon, sobre el cual el RNA se puede detectar mediante una sonda adecuada por hibridación específica de la base.

Oligonucleótido: Secuencia corta y definida de nucleótidos unidos en el enlace fosfodiéster típico.

Ori: Origen de la replicación del DNA.

PAC: Vector de clonación de alta capacidad (70-95 kb) basado en el bacteriófago P1 de *E. coli* lítico que se replica en bacterias como un elemento extracromosómico.

Palíndromo: Secuencia de DNA dúplex que es la misma cuando las dos hebras se leen en direcciones opuestas.

Perfilado de ribosomas: Variante de la huella que permite el aislamiento de pequeños fragmentos de mRNA protegidos de la digestión de nucleasas mediante la traducción activa de ribosomas. Permite la estimación cuantitativa de la cantidad y las tasas de síntesis del proteoma de las células.

Plásmido: Molécula pequeña, extracromosómica, circular de DNA, o episoma, que se replica independientemente del DNA del huésped.

Polimorfismo de microsatélites: Heterocigosidad de una cierta repetición de microsatélites en un individuo.

Primosoma: Complejo móvil de helicasa y primasa que participa en la replicación del DNA.

PRO-seq, ejecución de precisión en la secuencia: Método donde las transcripciones nacientes se capturan y secuencian específicamen-

te utilizando técnicas de secuenciación NGS. Este método permite mapear la ubicación de los complejos de transcripción activos en todo el genoma.

Proteoma: Toda la colección de proteínas expresadas en un organismo.

Proyecto ENCODE: Proyecto de la enciclopedia de elementos DNA; un esfuerzo de múltiples laboratorios en todo el mundo para proporcionar una representación detallada, bioquímicamente informativa del genoma humano utilizando métodos de secuenciación de alto rendimiento para identificar y catalogar los elementos funcionales dentro del genoma humano. modENCODE es una iniciativa paralela para realizar análisis similares sobre organismos modelo (levaduras, gusanos, moscas, etc.).

Pseudogén: Segmento inactivo de DNA que surge por la mutación de un gen activo parental; normalmente generado por la transposición de una copia de cDNA de un mRNA.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*): Método enzimático para la copia repetida (y, por tanto, la amplificación) de las dos hebras de DNA que componen una secuencia genética particular.

RIP: Método de inmunoprecipitación de RNA, realizado como ChIP, que se usa para puntuar la unión específica de una proteína a un RNA específico *in vivo*. El RIP utiliza la reticulación de formaldehído para inducir la unión covalente de proteínas al RNA (véase también CLIP/PAR-CLIP).

RNA-seq: Método en el que las poblaciones de RNA celular se convierten, a través de ligación de enlazador y PCR, en los cDNA, que luego se someten a secuenciación profunda para determinar la secuencia completa de, en esencia, todos los RNA en la preparación.

RT-PCR: Método utilizado para cuantificar los niveles de mRNA que se basa en un primer paso de copia de cDNA de mRNA catalizados por transcriptasa inversa antes de la amplificación y cuantificación por PCR.

Secuencias de repetición de microsatélites: Secuencias repetidas en grupo o dispersas de 2 a 5 bp repetidas hasta 50 veces. Puede ocurrir en 50 a 100 mil ubicaciones en el genoma.

Señal: Producto final observado cuando se detecta una secuencia específica de DNA o RNA por autorradiografía u otro método. La hibridación con un polinucleótido radiactivo complementario (p. ej., mediante Southern o Northern blot) se usa comúnmente para generar la señal.

SINES (*short interspersed repeat sequence*)**:** Secuencias repetidas cortas intercaladas.

siRNA (*silencing RNAs*)**:** Silenciamiento de los RNA de 21 a 25 nt de longitud generados por la degradación nucleolítica selectiva de RNA de doble hebra de origen celular o viral. Los siRNA se recombinan con varios sitios específicos dentro del objetivo en RNA que conducen a la degradación de mRNA, por tanto, "knock-down" del gen.

SNP (*single-nucleotide polymorphism*)**:** Polimorfismo de un solo nucleótido. Se refiere al hecho de que la variación genética de un solo nucleótido en la secuencia del genoma existe en loci discretos a lo largo de los cromosomas. La medición de las diferencias alélicas de SNP es útil para los estudios de mapeo de genes.

snRNA (*Small nuclear RN***):** RNA nuclear pequeño. Esta familia de RNA es mejor conocida por su papel en el procesamiento de mRNA.

Sonda: Molécula utilizada para detectar la presencia de un fragmento específico de DNA o RNA en, por ejemplo, una colonia bacteriana que se forma a partir de una biblioteca genética o durante el análisis mediante técnicas de electrotransferencia; las sondas comunes son moléculas de cDNA, oligodesoxinucleótidos sintéticos de secuencia definida o anticuerpos contra proteínas específicas.

Electrotransferencia Southern: Método para transferir DNA desde un gel de agarosa a un filtro de nitrocelulosa, en el que el DNA puede detectarse mediante una sonda adecuada (p. ej., DNA o RNA complementario).

Electrotransferencia Southwestern: Método para detectar interacciones proteína-DNA mediante la aplicación de una sonda de DNA marcada a una membrana de transferencia que contiene una proteína renaturalizada.

Tándem: Se usa para describir copias múltiples de la misma secuencia (p. ej., DNA) que se encuentran adyacentes entre sí.

Toma de huellas dactilares: Uso de RFLP o secuencia de repetición de DNA para establecer un patrón único de fragmentos de DNA para un individuo.

Traducción: Síntesis de proteína usando mRNA como plantilla.

Transcripción inversa: Síntesis dirigida por RNA de DNA catalizado por transcriptasa inversa.

Transcripción: Síntesis de ácidos nucleicos dirigida por plantilla de DNA, usualmente síntesis de RNA dirigida por DNA.

Transcriptoma: Toda la colección de RNA expresados en una célula, tejido, órgano u organismo; incluye tanto mRNA como ncRNA.

Terminal transferasa: Enzima que agrega nucleótidos de un tipo (p. ej., residuos de deoxiadenonucleotidilo) al extremo 3' de las hebras de DNA.

Transgénico: Describe la introducción de nuevo DNA en células germinales mediante su inyección en el núcleo del óvulo.

Traslación de la muesca: Técnica para etiquetar DNA basada en la capacidad de la DNA polimerasa I de *E. coli* para degradar una hebra de DNA que ha sido cortada y luego volver a sintetizar la hebra; si se emplea un nucleósido trifosfato radiactivo, la hebra nuevamente sintetizada se etiqueta y puede usarse como sonda radiactiva.

Variación del número de copias (CNV, *copy number variation*): Cambio en el número de copias de regiones genómicas específicas del DNA entre dos o más individuos. Las CNV pueden ser tan grandes como de hasta 10^6 bp de DNA y tan pequeñas como unos pocos bp. Las CNV también incluyen inserciones o eliminaciones (indels).

Vector: Plásmido o bacteriófago en el que se puede introducir DNA extraño con fines de clonación.

Western blot: Método para transferir proteína a un filtro de nitrocelulosa, en el que la proteína puede detectarse mediante una sonda adecuada (p. ej., un anticuerpo).

Preguntas del examen

Sección VII. Estructura, función y replicación de macromoléculas informativas

1. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre los derivados de β, γ-metileno y β, γ-imino de los trifosfatos de purina y pirimidina es CORRECTA?
   A. Son fármacos contra el cáncer potenciales.
   B. Son precursores de las vitaminas B.
   C. Se someten fácilmente a la eliminación hidrolítica del fosfato terminal.
   D. Se pueden usar para implicar la participación de nucleótidos trifosfatos por efectos distintos de la transferencia de fosforilo.
   E. Sirven como precursores de polinucleótidos.
2. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre las estructuras de nucleótidos NO ES CORRECTA?
   A. Los nucleótidos son ácidos polifuncionales.
   B. La cafeína y la teobromina difieren desde el punto de vista estructural únicamente con respecto al número de grupos metilo unidos a sus nitrógenos en el anillo.
   C. Una purina es una molécula aromática heterocíclica compuesta por un anillo de pirimidina fusionado a un anillo de imidazol.
   D. NAD^+, FMN, S-adenosilmetionina y coenzima A son derivados de ribonucleótidos.
   E. AMP 3',5'-cíclico y GMP 3',5'-cíclico (cAMP y cGMP) sirven como segundos mensajeros en la fisiología humana.
3. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre el metabolismo de nucleótidos de purina NO ES CORRECTA?
   A. Un primer paso en la biosíntesis de purinas es la formación de fosforribosil 1-pirofosfato (PRPP, *phosphoribosyl 1-pyrophosphate*).
   B. Monofosfato de inosina (IMP, *inosine monophosphate*) es un precursor de AMP y GMP.
   C. El ácido orótico es un intermediario en la biosíntesis de nucleótidos de pirimidina.
   D. Los seres humanos catabolizan uridina y pseudouridina por reacciones análogas.
   E. Ribonucleótido reductasa convierte los nucleósidos difosfatos en los correspondientes desoxirribonucleósidos difosfatos.
4. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones NO ES CORRECTA?
   A. Los trastornos metabólicos se asocian con poca frecuencia con defectos en el catabolismo de las purinas.
   B. Las disfunciones inmunes se asocian con una adenosina desaminasa defectuosa y con una purina nucleósido fosforilasa defectuosa.
   C. El síndrome de Lesch-Nyhan refleja un defecto en la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa.
   D. La litiasis de xantina puede deberse a un defecto grave en la xantina oxidasa.
   E. La hiperuricemia puede ser el resultado de afecciones como el cáncer que se caracteriza por una mayor renovación del tejido.
5. ¿Cuáles de los siguientes componentes se encuentran en el DNA? **Elija la respuesta más completa**.
   A. Un grupo fosfato, adenina y ribosa.
   B. Un grupo fosfato, guanina y desoxirribosa.
   C. Citosina y ribosa.
   D. Timosina y desoxirribosa.
   E. Un grupo fosfato y adenina.
6. Cuáles de los componentes siguientes conforman el esqueleto de una molécula de DNA?
   A. Azúcares alternantes y bases nitrogenadas.
   B. Bases nitrogenadas sólo.
   C. Grupos fosfatos solos.
   D. Grupos alternos de fosfato y azúcar.
   E. Cinco azúcares de carbono solamente.
7. ¿Cuál de los siguientes enlaces es el de interconexión que conecta los nucleótidos de RNA y DNA?
   A. Enlaces *N*-glucosídicos.
   B. Enlaces fosfodiéster 3'-5'.
   C. Fosfomonoésteres.
   D. Enlaces fosfodiéster.
   E. Enlaces de ácido nucleico peptídico.
8. ¿Qué componente del DNA dúplex causa que la molécula tenga una carga negativa neta en pH fisiológico?
   A. Desoxirribosa.
   B. Ribosa.
   C. Grupos de fosfato.
   D. Ion de cloro.
   E. Adenina.
9. ¿Qué característica molecular enumerada hace que el DNA dúplex muestre un ancho casi constante a lo largo de su eje largo?
   A. Una base nitrogenada de purina siempre se empareja con otra base nitrogenada de purina.
   B. Una base nitrogenada de pirimidina siempre se empareja con otra base nitrogenada de pirimidina.
   C. Una base nitrogenada de pirimidina siempre se empareja con una base nitrogenada de purina.
   D. La repulsión entre los grupos de fosfato mantiene las hebras a una distancia uniforme.
   E. La atracción entre los grupos de fosfato mantiene las hebras separadas a una distancia uniforme.
10. El modelo para la replicación del DNA propuesto por primera vez por Watson y Crick postuló que cada molécula de DNA dúplex hija de doble hebra recién replicada:
    A. Estaba compuesta por las dos hebras de la molécula de DNA parental.
    B. Contenía únicamente las dos hebras de DNA recién sintetizadas.
    C. Contenía dos hebras que son mezclas aleatorias de DNA nuevo y viejo dentro de cada hebra.
    D. Estaba compuesta por una hebra derivada de DNA dúplex parental original y una hebra que se había sintetizado recientemente.
    E. Estaba compuesta por secuencias de nucleótidos completamente distintas de cualquiera de las hebras de DNA parental.
11. Nombre el mecanismo a través del cual los RNAs se sintetizan a partir de DNA.
    A. Duplicación replicativa.
    B. Traducción.
    C. Reparación de la translesión.
    D. Transesterificación.
    E. Transcripción.

12. ¿Cuál de las fuerzas o interacciones enumeradas a continuación desempeña un papel predominante en la conducción de la formación de la estructura secundaria y terciaria del RNA?
    A. Repulsión hidrófila.
    B. Formación de regiones de pares de bases complementarias.
    C. Interacción hidrófoba.
    D. Interacciones de Van der Waals.
    E. Formación de puentes de sales.
13. Nombra la enzima que sintetiza RNA a partir de un molde de DNA de doble hebra.
    A. RNA polimerasa dependiente de RNA.
    B. RNA convertasa dependiente de DNA.
    C. Replicasa dependiente de RNA.
    D. RNA polimerasa dependiente de DNA.
    E. Transcriptasa inversa.
14. Defina la diferencia característica más notable con respecto a la expresión genética entre eucariotas y procariotas.
    A. Longitudes de nucleótidos de RNA ribosómico.
    B. Mitocondrias.
    C. Lisosomas y peroxisomas.
    D. Secuestro del material genómico en el núcleo.
    E. Clorofila.
15. ¿Cuál de las siguientes entradas describe correctamente el número aproximado de bp de DNA_____, que se separa en _____ cromosomas en células humanas diploides atípicas en un estado no replicativo?
    A. 64 mil millones, 23.
    B. 6.4 billones, 46.
    C. 23 mil millones, 64.
    D. 64 mil millones, 46.
    E. 6.4 mil millones, 46.
16. ¿Cuál es el número aproximado de pares de bases asociados con un solo nucleosoma?
    A. 146.
    B. 292.
    C. 73.
    D. 1 460.
    E. 900.
17. Todas menos una de las siguientes histonas se encuentran ubicadas dentro de la superhélice formada entre el DNA y el octámero de histona, ¿cuál de las siguientes es esta histona?
    A. Histona H2B.
    B. Histona H3.
    C. Histona H1.
    D. Histona H3.
    E. Histona H4.
18. La cromatina se puede definir ampliamente como activa y reprimida. ¿Cuál de las siguientes opciones se denomina como una subclase de cromatina que se inactiva específicamente en ciertos momentos dentro de la vida de un organismo y/o en conjuntos particulares de células diferenciadas?
    A. Eucromatina constitutiva.
    B. Heterocromatina facultativa.
    C. Eucromatina.
    D. Heterocromatina constitutiva.
19. ¿Cuál de las siguientes hipótesis establece que el estado físico y funcional de una determinada región de la cromatina genómica depende de los patrones de modificaciones postraduccionales (PTMs, *posttranslational modifications*) de histonas específicas y/o estado de metilación del DNA?
    A. Código Morse.
    B. Hipótesis de PTM.
    C. Hipótesis del cuerpo nuclear.
    D. Código epigenético.
    E. Código genético.
20. ¿Cuál es el nombre del tramo de DNA inusual repetido localizado en las puntas de todos los cromosomas eucariotas?
    A. Cinetocoro.
    B. Telómero.
    C. Centriolo.
    D. Cromómero.
    E. Micrómero.
21. Dado que las DNA polimerasas son incapaces de sintetizar DNA sin un cebador, ¿qué molécula sirve como cebador para estas enzimas durante la replicación del DNA?
    A. Cinco azúcares de carbono.
    B. Desoxirribosa sola.
    C. Una molécula corta de RNA.
    D. Proteínas con grupos hidroxilo libres.
    E. Fosfomonoéster.
22. ¿Cuál de los siguientes términos se usa para la replicación discontinua del DNA que se produce durante la replicación que se cataliza a través de la producción de pequeños segmentos de DNA?
    A. Fragmentos de Okazaki.
    B. Piezas de Toshihiro.
    C. Oligonucleótidos de Onishi.
    D. Hebras de Crick.
    E. Fragmentos de Watson.
23. ¿Qué molécula o fuerza suministra la energía que impulsa el alivio de la tensión mecánica mediante la DNA girasa?
    A. Conversión de pirimidina a purina.
    B. Hidrólisis de GTP.
    C. Hidrólisis de ATP.
    D. Glucólisis.
    E. Una molécula o fuerza de gradiente de protones.
24. ¿Cuál es el nombre de la fase del ciclo celular entre la conclusión de la división celular y el comienzo de La síntesis de DNA?
    A. G_1.
    B. S.
    C. G_2.
    D. M.
    E. G_0.
25. ¿En qué etapa del ciclo celular se activan las proteínas cinasas clave, como la cinasa dependiente de ciclina?
    A. Justo antes de la mitosis.
    B. Al comienzo de la fase S.
    C. Cerca del final de la fase G_1.
    D. Al final de la fase G_2.
    E. Todas las anteriores.

26. ¿Qué enfermedad a menudo se asocia con una interrupción de la capacidad de una célula para regular/controlar su propia división?
    A. Enfermedad renal.
    B. Cáncer.
    C. Enfisema.
    D. Diabetes.
    E. Enfermedad cardiaca.
27. ¿Cuál es el mecanismo molecular que es responsable de la disminución rápida en la actividad de Cdk que conduce a la salida de la fase M y la entrada a G_1?
    A. Disminución de la concentración de ciclina mitótica.
    B. Disminución de la concentración de ciclina G_1.
    C. Aumento de la concentración de ciclina G_2.
    D. Aumento de la concentración de ciclina mitótica.
    E. Aumento de la concentración de ciclina G_1.
28. ¿Cuál de los siguientes sitios es al que la RNA polimerasa se une en el DNA molde antes del inicio de la transcripción?
    A. Unión de intrón/exón.
    B. Marco abierto de lectura DNA.
    C. Terminador.
    D. Iniciador de codón de metionina.
    E. Promotor.
29. Los grandes genes de rRNA eucariota, tales como los genes de codificación de RNA 18S y 28S, se transcriben mediante cuál de las siguientes RNA polimerasas?
    A. RNA polimerasa III.
    B. RNA polimerasa δ dependiente de RNA.
    C. RNA polimerasa I.
    D. RNA polimerasa II.
    E. RNA polimerasa mitocondrial.
30. Todas las RNA polimerasas eucariotas tienen el requisito de una gran variedad de proteínas accesorias que les permita unirse a promotores y formar complejos de transcripción fisiológicamente relevantes. ¿Cómo se denominan estas proteínas?
    A. Factores de transcripción basal o general.
    B. Activadores.
    C. Factores accesorios.
    D. Factores de elongación.
    E. Polipéptidos facilitadores.
31. ¿Cómo se denomina el segmento de DNA a partir del cual se copia o transcribe la transcripción primaria?
    A. Hebra de codificación.
    B. Dominio iniciador de metionina.
    C. Unidad de traducción.
    D. Transcriptoma.
    E. Codón inicial.
32. ¿Qué clase de secuencias de DNA son los genes eucariotas que codifican rRNA?
    A. DNA de una sola copia.
    B. DNA altamente repetitivo.
    C. DNA moderadamente repetitivo.
    D. DNA de secuencia mixta.
33. ¿Cómo se producen las modificaciones a los nucleótidos de los pretRNA, prerRNA y premRNA?
    A. Posprandialmente.
    B. Posmitóticamente.
    C. Pretranscripcionalmente.
    D. Postranscripcionalmente.
    E. Prematuramente.
34. ¿En qué lado de la unidad de transcripción están ubicados los promotores de la RNA polimerasa II?
    A. Interno.
    B. 3' corriente abajo.
    C. Más cercano a C-terminal.
    D. Más cercano a N-terminal.
    E. 5' corriente arriba.
35. Con respecto a los mRNA eucariotas, ¿cuál de las siguientes opciones no es una propiedad normal de los mRNA?
    A. Los mRNA eucariotas tienen modificaciones especiales en sus extremos 5' (caperuza) y 3' (cola poli(A)).
    B. Están unidos a los ribosomas cuando se traducen.
    C. Se encuentran en el citoplasma dentro de los peroxisomas.
    D. La mayoría tiene un segmento significativo no codificador que no dirige el ensamblaje de aminoácidos.
    E. Contienen secuencias de nucleótidos continuas que codifican un polipéptido particular.
36. ¿Cuál de los siguientes enlaces es el que conecta el nucleótido de iniciación de mRNA con la estructura de la caperuza 5^{me}-G?
    A. Enlace fosfodiéster 3'-5'.
    B. Enlace trifosfato 5'-5'.
    C. Enlace trifosfato 3'-3'.
    D. Enlace trifosfato 3'-5'
    E. Enlace trifosfato 5'-3'
37. ¿Qué característica de la secuencia de los mRNA maduros que se listan a continuación se cree que protege los mRNA de la degradación?
    A. Modificaciones postraduccionales especiales
    B. cola 3'Poli$(C)_n$
    C. caperuza 5^{me}-G
    D. Intrones
    E. Estructuras Lariat
38. ¿Cuáles podrían ser las consecuencias de un empalme inexacto de mRNA para el RNA?
    A. Un único error de base en una unión de empalme causará una gran eliminación.
    B. Un único error de base en una unión de empalme causará una gran inserción.
    C. Un único error de base en una unión de empalme causará una gran inversión.
    D. C y E
    E. Un único error de base en una unión de empalme cambiará el marco de lectura y dará como resultado la traducción errónea de mRNA.
39. ¿Cuál es el complejo macromolecular que se asocia con intrones durante el empalme de mRNA?
    A. Empalme
    B. Dicer
    C. Cuerpo nuclear
    D. Espliceosoma
    E. Rebanador
40. ¿Qué reacción cataliza la transcriptasa inversa?
    A. Traducción de RNA a DNA
    B. Transcripción de DNA a RNA
    C. Conversión de ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos
    D. Transcripción de RNA a DNA
    E. Conversión de un ribonucleótido a desoxinucleótidos en la doble hélice de DNA

41. ¿Cuál de las siguientes opciones es la interferencia de RNA mediada por RNAi o dsRNA?
    A. Ligadura de RNA
    B. Silenciamiento de RNA
    C. Inversión de RNA
    D. Restauración de RNA
    E. Aplastamiento de RNA
42. Si bien el código genético tiene 64 codones, sólo hay 20 aminoácidos naturales. En consecuencia, algunos aminoácidos están codificados por más de un codón. Esta característica del código genético es una ilustración de cuál entre las siguientes
    A. Degenerativo
    B. Duplicativo
    C. No superpuesto
    D. Superpuesto
    E. Redundante
43. ¿Cuántos codones de terminación contiene el código genético?
    A. 3
    B. 21
    C. 61
    D. 64
    E. 20
44. Si un tRNA tiene la secuencia 5'-CAU-3', ¿qué codón reconocería? (**ignorar el emparejamiento de base wobble**).
    A. 3'-UAC-5'.
    B. 3'-AUG-5'.
    C. 5'-ATG-3'.
    D. 5'-AUC-3'.
    E. 5'-AUG-3'.
45. Qué hay en el extremo 3' de todos los tRNA maduros funcionales?
    A. El asa de hoja de trébol.
    B. El anticodón.
    C. La secuencia CCA.
    D. El codón.
46. La mayoría de las aminoacil-tRNA sintetasas poseen una actividad que se comparte con las DNA polimerasas. Esta actividad es una función _____.
    A. Corrección de pruebas.
    B. Hidrogenasa.
    C. Proteolítica.
    D. Helicasa.
    E. Endonucleolítica.
47. ¿Cuál es el orden CORRECTO para las tres fases distintas de la síntesis de proteínas?
    A. Iniciación, terminación, elongación.
    B. Terminación, iniciación, elongación.
    C. Iniciación, elongación, terminación.
    D. Elongación, iniciación, terminación.
    E. Elongación, terminación, iniciación.
48. ¿Qué aminoácido es el aminoácido iniciador de prácticamente todas las proteínas?
    A. Cisteína.
    B. Treonina.
    C. Triptófano.
    D. Metionina.
    E. Ácido glutámico.
49. Durante la síntesis de proteínas, ¿en cuál de los tres "sitios" ribosomales canónicos se coloca el tRNA iniciador dentro del complejo 80S activo?
    A. sitio E.
    B. sitio I.
    C. sitio P.
    D. sitio A.
    E. Sitio de unión del factor de liberación.
50. Nombre la enzima que forma el enlace peptídico durante la síntesis de proteína y defina su composición química.
    A. Pepsintasa, proteína.
    B. Peptidiltransferasa, RNA.
    C. Peptidasa, glucolípido.
    D. Peptidiltransferasa, proteína.
    E. GTPasa, glucopéptido.
51. ¿Cuál es el término utilizado para las mutaciones en el medio de un marco abierto de lectura que crea un codón de parada?
    A. Mutación de cambio del marco.
    B. Mutación con sentido erróneo.
    C. Mutación que no contiene sin sentido.
    D. Mutación puntual.
    E. Mutación sin sentido.
52. ¿Cuál es la direccionalidad de la síntesis de polipéptidos?
    A. Dirección C-terminal a N-terminal.
    B. Dirección N-terminal a 3'.
    C. Dirección N-terminal a C-terminal.
    D. Dirección 3' a 5'.
    E. Dirección 5' a 3'.
53. ¿Cuál de los siguientes elementos que actúan en *cis* es usual que resida adyacente a o se solape con muchos promotores procariotas?
    A. Gen regulatorio.
    B. Gen(es) estructural(es).
    C. Represor.
    D. Operador.
    E. Terminador.
54. ¿Cuál es el término que se aplica a un segmento de un cromosoma bacteriano en el que los genes de las enzimas de una vía metabólica particular están agrupados y sujetos al control de coordinación?
    A. Operón.
    B. Operador.
    C. Promotor.
    D. Controlador terminal.
    E. Origen.
55. ¿Cuál es el término aplicado a la colección completa de proteínas presentes en un tipo de célula particular?
    A. Genoma.
    B. Colección de péptidos.
    C. Transcriptoma.
    D. Translatoma.
    E. Proteoma.

56. ¿Cómo afecta la formación de nucleosomas en el DNA genómico las fases de iniciación y/o elongación de la transcripción?
    A. Los nucleosomas inhiben el acceso de las enzimas involucradas en todas las fases de la transcripción.
    B. Los nucleosomas reclutan histonas y enzimas modificadoras del DNA, y las acciones de estas enzimas reclutadas afectan el acceso de las proteínas de transcripción al DNA.
    C. Los nucleosomas inducen la degradación del DNA cuando el DNA entra en contacto con las histonas.
    D. Los nucleosomas no tienen un efecto significativo en la transcripción.
57. ¿Qué tipos de moléculas interactúan con los sitios del promotor central del gen del mRNA eucariota para facilitar la asociación de la RNA polimerasa II?
    A. Factores de terminación.
    B. Factores de transcripción específicos de la secuencia (transactivadores).
    C. Factores de elongación.
    D. GTPasas.
    E. General, o factores de transcripción basal (es decir, los GTF).
58. La mayoría de los factores de transcripción eucariotas contienen, al menos, dos dominios, cada uno de los cuales media en diferentes aspectos de la función del factor de transcripción. ¿Cuáles de los siguientes son estos dominios?
    A. Dominio de unión a RNA y dominio de represión.
    B. Dominio de activación y dominio de represión.
    C. Dominio de unión a DNA y dominio de activación.
    D. Dominio de unión a DNA y dominio de unión a ligando.
    E. Dominio de unión a RNA y dominio de activación.
59. ¿Cuál de las siguientes opciones se denomina factores de transcripción unidos a potenciadores que estimulan la iniciación de la transcripción en el promotor central unido a *cis* a través de la acción de intermediarios?
    A. Coactivadores.
    B. Proteínas de cotranscripción.
    C. Correpresores.
    D. Receptores.
    E. Coordinadores.
60. ¿Qué reacciones entre las proteínas de transcripción aumentan en gran medida la diversidad de factores reguladores que pueden generarse a partir de un pequeño número de polipéptidos?
    A. Recombinación.
    B. Homodimerización.
    C. Heterocigosidad.
    D. Heterodimerización.
    E. Trimerización.
61. ¿Cómo se denomina a menudo la región del gen que contiene la caja TATA y que se extiende al sitio de inicio de la transcripción (TSS, *transcription start site*)?
    A. Casa de polimerasa.
    B. Iniciador.
    C. Selector de inicio.
    D. Promotor central.
    E. Operador.
62. ¿Cuál de los siguientes posibles mecanismos de cómo los potenciadores pueden estimular la transcripción desde grandes distancias se considera actualmente CORRECTO?
    A. Los potenciadores pueden eliminar de manera reversible el DNA intermedio entre potenciadores y promotores.
    B. La RNA polimerasa II se une ávidamente a secuencias potenciadoras.
    C. Los potenciadores desenrollan el DNA.
    D. Los potenciadores pueden buscar a través del DNA y unirse directamente al promotor central asociado.
    E. Potenciadores y promotores centrales se acercan a la formación del bucle de DNA mediado por proteínas de unión a DNA.
63. ¿Cuál de los siguientes aminoácidos de histonas están normalmente acetilados?
    A. Lisina.
    B. Arginina.
    C. Asparagina.
    D. Histidina.
    E. Leucina.
64. Siga los siguientes pasos en orden; cuáles son los pasos que ocurren secuencialmente durante un evento de activación de la transcripción después de la unión de un activador de la transcripción a su sitio de unión del activador afín en el DNA genómico.
    1. El complejo de remodelación de la cromatina se une a las histonas centrales en la región blanco.
    2. Las acciones combinadas de los diversos complejos moleculares aumentan el acceso del promotor a la maquinaria transcripcional.
    3. El activador recluta un coactivador a una región de la cromatina seleccionada para la transcripción.
    4. La maquinaria transcripcional se ensambla en el sitio donde se iniciará la transcripción.
    5. El coactivador acetila las histonas centrales de los nucleosomas cercanos.
    A. 1 – 2 – 3 – 4 – 5.
    B. 3 – 1 – 5 – 2 – 4.
    C. 3 – 5 – 1 – 2 – 4.
    D. 5 – 3 – 1 – 2 – 4.
    E. 3 – 5 – 1 – 4 – 2.
65. ¿Qué estrategia en la investigación del factor de transcripción permite la identificación simultánea de todos los sitios genómicos unidos por un factor de transcripción dado bajo un conjunto determinado de condiciones fisiológicas?
    A. Mapeo de eliminación sistemática.
    B. Sensibilidad a DNAsa I.
    C. Secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-seq)
    D. FISH.
    E. Microscopía de fluorescencia de toda la vida.

66. ¿Qué secuencias se extienden entre la cubierta de 5'-metilguanosina presente en los mRNA eucariotas y el codón de iniciación AUG?
    A. Codón de detención.
    B. Último exón.
    C. Último intrón.
    D. 3'UTR.
    E. 5'UTR.

67. ¿Cuál de las siguientes características del mRNA eucariota contribuye de manera importante a la vida media del mensaje?
    A. Secuencias de 5'-UTR.
    B. El promotor.
    C. El operador.
    D. Cola poli(A) y 3'UTR.
    E. El primer intrón.

SECCIÓN

VIII

Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular

CAPÍTULO

40

Membranas: estructura y función

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted debería ser capaz de:

- Conocer que las membranas biológicas están compuestas principalmente por una bicapa lipídica, proteínas, y glicoproteínas asociadas. Los lípidos principales son fosfolípidos, colesterol y glucoesfingolípidos.
- Apreciar que las membranas son estructuras asimétricas y dinámicas que contienen una mezcla de proteínas integrales y periféricas.
- Describir el modelo ampliamente aceptado del mosaico de fluidos de la estructura de la membrana.
- Comprender los conceptos de difusión pasiva, dispersión facilitada, transporte activo, endocitosis y exocitosis.
- Reconocer que los transportadores, los canales iónicos, la Na^+–K^+-ATPasa, los receptores, y las uniones gap, son participantes importantes en la función de la membrana.
- Tener en cuenta que una variedad de trastornos resultan de anormalidades de la estructura y función de la membrana, incluyendo la hipercolesterolemia familiar, la fibrosis quística y la esferocitosis hereditaria, entre otros.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las membranas son estructuras dinámicas y altamente fluidas compuestas por una bicapa lipídica y proteínas asociadas. En el caso de las **membranas plasmáticas**, estas forman compartimientos cerrados alrededor del citoplasma para definir los límites celulares. La membrana plasmática tiene **permeabilidad selectiva** y actúa como barrera, manteniendo así las diferencias de composición entre el interior y el exterior de la célula. La permeabilidad molecular selectiva de la membrana se genera a través de la acción de **transportadores** específicos y **canales iónicos**. La membrana plasmática también intercambia material con el entorno extracelular por exocitosis y endocitosis, y existen áreas especiales de unión de membrana –**uniones gap**– a través de las cuales las células adyacentes se pueden comunicar intercambiando material. Además, la membrana plasmática desempeña un papel clave en las **interacciones célula-célula** y en la **señalización transmembrana**.

Las membranas también forman **compartimientos especializados** dentro de la célula. Dichas membranas intracelulares ayudan a dar **forma** a muchas de las estructuras morfológicamente distinguibles (orgánulos); por ejemplo, mitocondrias, retículo endoplásmico (ER), Golgi, gránulos secretores, lisosomas y el núcleo. Las mem-

branas localizan **enzimas**, funcionan como elementos integrales en el **acoplamiento excitación-respuesta**, y proporcionan sitios de transducción de energía como en la fotosíntesis de las plantas (cloroplastos), y en la fosforilación oxidativa (mitocondrias).

Los cambios en los componentes de la membrana pueden afectar el balance hídrico y el flujo de iones, y por tanto muchos procesos dentro de la célula. Las deficiencias o alteraciones específicas de ciertos componentes de la membrana (p. ej., causadas por mutaciones en genes que codifican las proteínas de membrana) conducen a una variedad de **enfermedades** (véase el cuadro 40-7). En resumen, la función celular normal depende en forma crítica de membranas normales.

EL MANTENIMIENTO DE UN ENTORNO NORMAL INTRA Y EXTRACELULAR ES FUNDAMENTAL PARA LA VIDA

La vida se originó en un ambiente acuoso; por tanto, las reacciones enzimáticas, así como los procesos celulares y subcelulares han evolucionado para funcionar en este medio, encapsulados dentro de una célula.

El agua interna del cuerpo está compartimentada

El agua constituye aproximadamente 60% de la masa corporal magra del cuerpo humano, y se distribuye en dos grandes partes.

Líquido intracelular (ICF)

Esta parte constituye **dos tercios** del agua corporal total, y proporciona un entorno especializado para que la célula 1) fabrique, almacene y utilice energía; 2) se repare a sí misma; 3) se replique; y 4) realice funciones específicas celulares.

Fluido Extracelular (ECF)

Esta parte contiene aproximadamente un tercio del agua corporal total, y se distribuye entre el plasma y los sitios intersticiales. El fluido extracelular es un **sistema de entrega**. Trae nutrientes a las células (p. ej., glucosa, ácidos grasos y aminoácidos), oxígeno, diversos iones y minerales, y una variedad de moléculas reguladoras (hormonas) que coordinan las funciones de células muy separadas. El fluido extracelular **elimina** el CO_2, los productos de desecho y los materiales tóxicos, o desintoxicados, del entorno celular inmediato.

Las composiciones iónicas de los líquidos intracelulares y extracelulares difieren enormemente

Como se ilustra en el cuadro 40-1, el entorno interno es rico en K^+ y Mg_2^+, y el fosfato es su principal anión inorgánico.

El citosol celular contiene una alta concentración de proteína, que actúa como un importante amortiguador intracelular. El **fluido extracelular** se caracteriza por un alto contenido de Na^+ y Ca^{2+}, y el Cl^- es el anión principal. Estas diferencias iónicas se mantienen gracias a varias membranas que se encuentran en las células y que tienen composiciones únicas de lípidos y proteínas. Una fracción de los constituyentes proteicos de las proteínas de membrana está especializada en generar y mantener las composiciones iónicas diferenciales de las partes extra e intracelulares.

CUADRO 40-1 Comparación de las concentraciones medias de varias moléculas fuera y dentro de una célula de mamífero

Sustancia	Fluido extracelular	Fluido intracelular
Na^+	140 mmol/L	10 mmol/L
K^+	4 mmol/L	140 mmol/L
Ca^{2+} (libre)	2.5 mmol/L	0.1 µmol/L
Mg^{2+}	1.5 mmol/L	30 mmol/L
Cl^-	100 mmol/L	4 mmol/L
HCO_3^-	27 mmol/L	10 mmol/L
PO_4^{3-}	2 mmol/L	60 mmol/L
Glucosa	5.5 mmol/L	0-1 mmol/L
Proteína	2 g/dL	16 g/dL

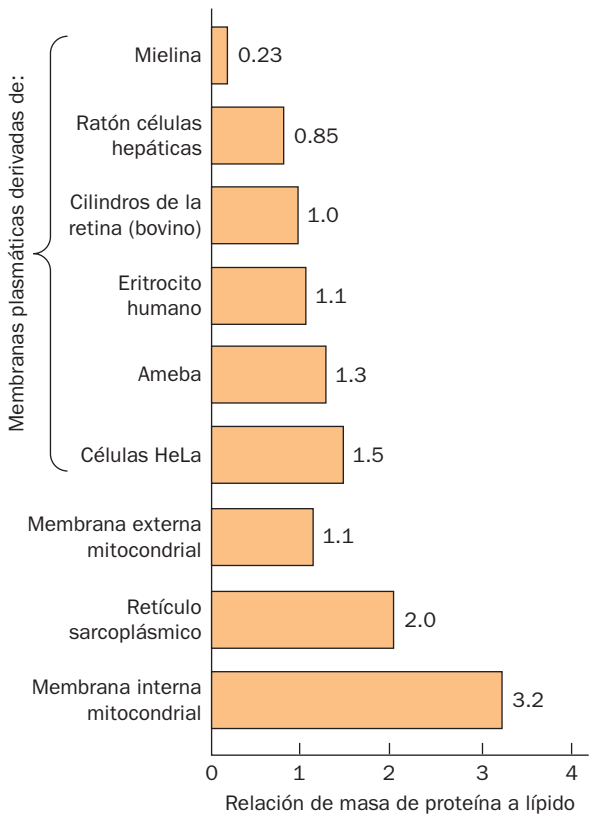


FIGURA 40-1 El contenido de proteína de membrana es muy variable. La cantidad de proteínas iguala o excede la cantidad de lípidos en casi todas las membranas. La excepción sobresaliente es la mielina, un aislante eléctrico que se encuentra en muchas fibras nerviosas.

LAS MEMBRANAS SON ESTRUCTURAS COMPLEJAS COMPUESTAS DE LÍPIDOS, PROTEÍNAS Y MOLÉCULAS QUE CONTIENEN CARBOHIDRATOS

Esencialmente, discutiremos sobre las membranas presentes en las células eucariotas, aunque muchos de los principios descritos también se aplican a las membranas de los procariotas. Las diversas membranas celulares tienen diferentes composiciones de lípidos y proteínas. La relación de proteína a lípidos en las distintas membranas se presenta en la figura 40-1, y es responsable de las muchas y diferentes funciones de los organelos celulares. Las membranas son estructuras cerradas tipo lámina, que consisten en una bicapa lipídica asimétrica con distintas superficies internas y externas, o folíolos. Estas estructuras y superficies son ensambles no covalentes, con forma de lámina y proteínas, que se forman espontáneamente en ambientes acuosos debido a la naturaleza anfipática de los lípidos y las proteínas contenidas dentro de la membrana.

Los principales lípidos en las membranas de los mamíferos son los fosfolípidos, los glucoesfingolípidos y el colesterol

Fosfolípidos

De las dos principales clases de fosfolípidos presentes en las membranas, los **fosfoglicéridos** son los más comunes, y consisten en un esqueleto de glicerol-fosfato al que se unen dos ácidos grasos en enlaces éster, y un alcohol (figura 40-2). Los componentes **ácidos grasos** son usualmente moléculas de carbono par, que con mayor frecuencia contienen 16 o 18 carbonos. No están ramificados y pueden estar saturados o insaturados, con uno o más dobles enlaces. El fosfoglicérido más simple es el **ácido fosfatídico**, un 1,2-diacilglicerol 3-fosfato, un intermediario clave en la formación de otros fosfoglicéridos (véase capítulo 24). En la mayoría de los fosfoglicéridos presentes en las membranas, el 3-fosfato se esterifica a un **alcohol** como la colina, etanolamina, glicerol, inositol o serina (véase el capítulo 21). La fosfatidilcolina es, por lo general, el principal fosfoglicérido por cantidad de masa en las membranas de las células humanas.

La segunda clase principal de fosfolípidos comprende la **esfingomielina** (véase la figura 21-11), un fosfolípido que contiene una cadena principal de esfingosina en lugar de glicerol. Un ácido graso se une mediante un enlace de amida al grupo amino de esfingosina, formando ceramida. Cuando el grupo hidroxilo primario de esfingosina se esterifica a fosforilcolina, se forma esfingomielina. Como su nombre indica, la esfingomielina es prominente en las vainas de mielina.

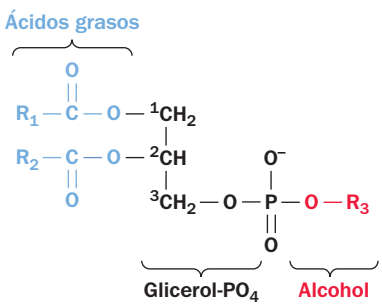


FIGURA 40-2 Un fosfoglicérido que muestra los ácidos grasos (R_1 y R_2), glicerol, y un componente de alcohol fosforilado. Los ácidos grasos saturados por lo general se unen al carbono 1 del glicerol, y los ácidos grasos insaturados al carbono 2. En el ácido fosfatídico, R_3 es hidrógeno.

Glucoesfingolípidos

Los **glucoesfingolípidos** (**GSL**) son lípidos que contienen azúcar, construidos sobre una columna vertebral de *ceramida*. Los GSL incluyen **galactosil-** y **glucosil-ceramidas** (cerebrósidos) y los gangliósidos (véase estructuras en el capítulo 21), y se localizan principalmente en las membranas plasmáticas de las células, desplegando sus componentes de azúcar al exterior de la célula.

Esteroles

El esterol más común en las membranas de las células animales es el **colesterol** (véase capítulo 21). La mayor parte del colesterol reside dentro de las **membranas plasmáticas**, pero se encuentran cantidades menores dentro de las mitocondrias, el complejo de Golgi y las membranas nucleares. El colesterol se intercala entre los fosfolípidos de la membrana, con su grupo hidrofílico hidroxilo en la interfaz acuosa, y el resto de la molécula enterrada dentro del foliolo bicapa lipídico. Desde el punto de vista nutricional, es importante saber que el colesterol no está presente en las plantas.

Los lípidos se pueden separar uno del otro, y cuantificarse mediante técnicas como cromatografía de columna, capa delgada y gas-líquido, y sus estructuras se pueden establecer mediante espectrometría de masas y otras técnicas (véase el capítulo 4).

Los lípidos de membrana son anfipáticos

Todos los lípidos principales en las membranas contienen tanto regiones hidrofóbicas como hidrofílicas y, por tanto, se denominan **anfipáticos**. Si la región hidrofóbica estuviera separada del resto de la molécula, sería insoluble en agua, pero soluble en disolventes orgánicos. Por el contrario, si la región hidrófila estuviera separada del resto de la molécula, sería insoluble en disolventes orgánicos,

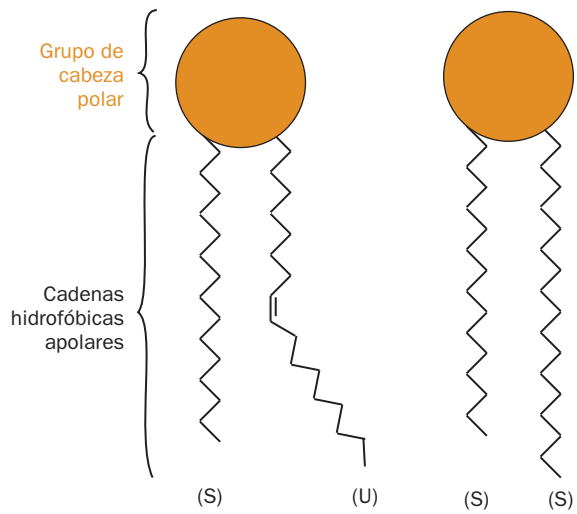


FIGURA 40-3 Representación diagramática de un fosfolípido u otro lípido de membrana.

pero soluble en agua. La naturaleza anfipática de un fosfolípido se representa en la figura 40-3, y también en la figura 21-24. Por tanto, los **grupos de cabeza polar** de los fosfolípidos y el grupo hidroxilo del colesterol forman interfaz con el entorno acuoso; una situación similar se aplica a los **residuos de azúcar** de los GSL (véase abajo).

El grupo de cabeza polar es hidrofílico, y las colas de hidrocarburo son hidrófobas o lipófilas. Los ácidos grasos en las colas están saturados (S) o insaturados (U); el primero, por lo general, está unido al carbono 1 del glicerol y el último al carbono 2 (véase la figura 40-2). Tenga en cuenta el acodamiento en la cola del ácido graso insaturado (U), que es importante para conferir una mayor fluidez de la membrana.

El fosfolípido S-U a la izquierda contiene el ácido palmítico lipídico saturado C_{16} y el ácido *cis*-oleico lipídico C_{18} monoinsaturado; ambos están esterificados a glicerol (véase la figura 40-2). El fosfolípido S-S esquematizado a la derecha contiene el ácido palmítico lipídico saturado C_{16}, y el lípido saturado C_{18} –ácido esteárico–.

Los **ácidos grasos saturados** forman colas relativamente rectas, mientras que los ácidos grasos insaturados, que por lo general existen en forma de *cis* en las membranas, forman colas "retorcidas" (figura 40-3; véanse también las figuras 21-1, 21-6). A medida que aumenta el número de enlaces dobles dentro de las cadenas laterales de los lípidos, aumenta el número de dobleces en las colas. Como consecuencia, los lípidos de la membrana se compactan menos y la membrana es más fluida. El problema causado por la presencia de **trans** ácidos grasos en los lípidos de la membrana se describe en el capítulo 21.

Los **detergentes** son moléculas anfipáticas, importantes tanto en la bioquímica como en el hogar. La estructura molecular de un detergente no es diferente a la de un fosfolípido. Ciertos detergentes se usan ampliamente para solubilizar y purificar proteínas de membrana. El extremo hidrófobo del detergente se une a las regiones hidrofóbicas de las proteínas, desplazando la mayoría de sus lípidos enlazados. El extremo polar del detergente es libre, llevando las proteínas a la solución como complejos detergente-proteína, que con frecuencia también contienen algunos lípidos residuales.

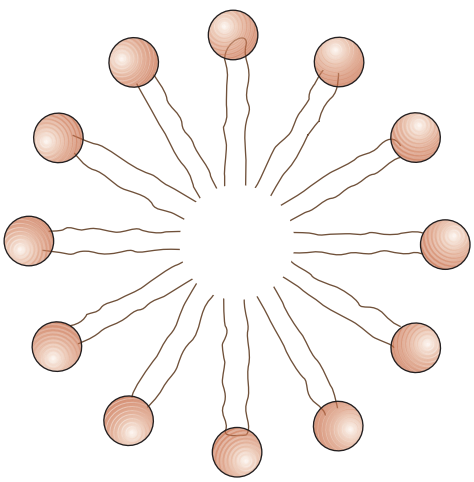


FIGURA 40-4 Sección transversal esquemática de una micela. Los grupos de cabezas polares se bañan en agua, mientras que las colas de hidrocarburos hidrofóbicas están rodeadas por otros hidrocarburos y, por tanto, protegidas del agua. Las micelas son estructuras esféricas relativamente pequeñas (en comparación con las bicapas lipídicas).

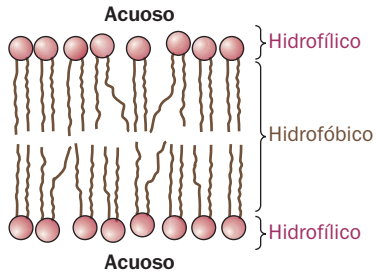


FIGURA 40-5 Diagrama de una sección de una membrana bicapa formada a partir de fosfolípidos. Las colas de ácidos grasos insaturados están dobladas y conducen a un mayor espacio entre los grupos de cabezas polares y, por tanto, a un mayor espacio para el movimiento. Esto, a su vez, resulta en una mayor fluidez de la membrana.

Los lípidos de la membrana forman bicapas

El carácter anfipático de los fosfolípidos sugiere que las dos regiones de la molécula tienen solubilidades incompatibles. Sin embargo, en un solvente como el agua los fosfolípidos se organizan espontáneamente en micelas (figura 40-4 y figura 21-24), un ensamblaje que satisface de forma termodinámica los requisitos de solubilidad de las dos regiones químicamente distintas de estas moléculas. Dentro de la micela, las regiones hidrofóbicas de los fosfolípidos anfipáticos están protegidas del agua, mientras que los grupos hidrófilos polares están sumergidos en el medio acuoso. Las micelas son casi siempre de tamaño relativamente pequeño (p. ej., ~200 nm), y en consecuencia tienen un potencial limitado para formar membranas. Los detergentes, por lo común, forman micelas.

Los fosfolípidos y moléculas anfipáticas similares pueden formar otra estructura, la **bicapa lipídica biomolecular**, que también satisface los requisitos termodinámicos de las moléculas anfipáticas en un entorno acuoso. Las bicapas son las estructuras clave en las membranas biológicas y existen como láminas donde las regiones hidrófobas de los fosfolípidos están secuestradas en el entorno acuoso, mientras que las porciones hidrófilas y cargadas están expuestas al agua (figura 40-5 y figura 21-24).

Los extremos o los bordes de la lámina bicapa se pueden eliminar doblando la lámina sobre sí misma para formar una vesícula cerrada sin bordes. La bicapa cerrada proporciona una de las propiedades más esenciales de las membranas. La bicapa lipídica es **impermeable a la mayoría de las moléculas solubles en agua**, ya que tales moléculas cargadas serían insolubles en el núcleo hidrofóbico de la bicapa. El autoensamblaje de las bicapas lipídicas se basa en el efecto hidrofóbico, que describe la tendencia de las **moléculas no polares a autoasociarse** en un entorno acuoso, mientras que en el proceso se excluye el H_2O. Cuando las moléculas de lípidos se unen en una bicapa, la entropía de las moléculas de disolvente circundante aumenta debido a la liberación de agua inmovilizada.

Dos preguntas surgen tras considerar la información antes descrita. En primer lugar, ¿cuántas moléculas biológicamente importantes son solubles en lípidos, y por tanto pueden entrar fácilmente en la célula? Los gases como el oxígeno, el CO_2 y el nitrógeno (pequeñas moléculas con poca interacción con los disolventes) se difunden fácilmente a través de las regiones hidrofóbicas de la membrana. Los coeficientes de permeabilidad de varios iones y varias otras moléculas en una bicapa lipídica se muestran en la figura 40-6. Los electrolitos Na^+, K^+ y Cl^- cruzan la bicapa más lentamente

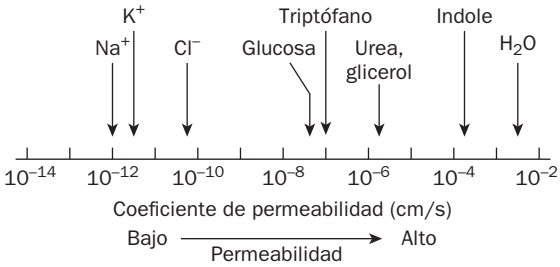


FIGURA 40-6 Coeficientes de permeabilidad del agua, de algunos iones y otras moléculas pequeñas en las membranas de bicapa lipídica. El coeficiente de permeabilidad es una medida de la capacidad de una molécula para difundirse a través de una barrera de permeabilidad. Se dice que las moléculas que se mueven rápidamente a través de una membrana tienen un alto coeficiente de permeabilidad.

que el agua. En general, los coeficientes de permeabilidad de moléculas pequeñas en una bicapa lipídica **se correlacionan con sus solubilidades en solventes no polares**. Por ejemplo, los **esteroides** atraviesan más fácilmente la bicapa lipídica que los electrolitos. El alto coeficiente de permeabilidad del **agua** en sí es sorprendente, pero se explica en parte por su pequeño tamaño y la relativa falta de carga. Muchos **medicamentos** son hidrofóbicos y pueden atravesar fácilmente las membranas y entrar en las células.

La segunda pregunta es sobre las moléculas solubles no-lipídicas. ¿Cómo se mantienen los gradientes de concentración transmembrana para estas moléculas? La respuesta es que las **membranas contienen proteínas**, muchas de las cuales abarcan la bicapa lipídica. Estas proteínas forman canales para el movimiento de iones y pequeñas moléculas, o sirven como transportadores de moléculas que de otro modo no podrían atravesar fácilmente la bicapa lipídica (membrana). La naturaleza, propiedades y estructuras de los canales de membrana y los transportadores se describen a continuación.

Las proteínas de membrana están asociadas con la bicapa lipídica

Los **fosfolípidos** de membrana actúan como un solvente para las proteínas de membrana, creando un ambiente en el cual estas últimas pueden funcionar. Como se describe en el capítulo 5, la **estructura helicoidal de las proteínas** minimiza el carácter hidrófilo de los enlaces peptídicos por sí mismos. Por tanto, las proteínas pueden ser anfipáticas y formar una parte integral de la membrana, teniendo regiones hidrófilas que sobresalen en las caras interna y externa de la membrana, pero conectadas por una región hidrófoba que atraviesa el núcleo hidrófobo de la bicapa. De hecho, aquellas porciones de proteínas que atraviesan las membranas contienen números sustanciales de aminoácidos hidrófobos, y casi invariablemente tienen un alto contenido helicoidal. Para la mayoría de las membranas, un tramo de ~20 aminoácidos en una configuración α-helicoidal abarcará la bicapa lipídica (consulte la figura 5-2).

Es posible calcular si una secuencia particular de aminoácidos presente en una proteína es consistente con una **ubicación transmembrana**. Esto se puede hacer consultando una tabla que enumera las hidrofobicidades de cada uno de los 20 aminoácidos comunes, y los valores de energía libre para su transferencia del interior de una membrana al agua. Los aminoácidos hidrofóbicos tienen valores positivos; los aminoácidos polares tienen valores negativos. Si se representan gráficamente los valores totales de energía libre para transferir sucesivas secuencias de 20 aminoácidos en la proteína, se obtiene el denominado **gráfico de hidropatía**. Los valores de más de 20 kcal mol^{-1} son consistentes con la interpretación de que la secuencia hidrofóbica es un segmento transmembrana, pero no está demostrado.

Otro aspecto de la interacción de lípidos y proteínas es que algunas proteínas se anclan a un folíolo de la bicapa mediante enlaces covalentes a ciertos lípidos; este proceso se denomina **lipidación de proteínas**. La lipidación puede ocurrir en los extremos proteicos (N^- o C^-) o internamente. Los eventos comunes de lipidación de proteínas son **isoprenilación**, **colesterilización** en la C-terminal de la proteína, y glucofosfatidilinositol (GPI, véase figura 46-1); miristoilación en la N-terminal de la proteína, y cisteína **S-prenilación** y **S-acilación** interna. Dicha lipidación sólo ocurre en un subconjunto específico de proteínas, y es típico que desempeñe un papel clave en su biología.

Diferentes membranas tienen diferentes composiciones de proteínas

El **número de proteínas diferentes** en una membrana varía desde menos de una docena de proteínas, muy abundantes en el retículo sarcoplásmico de las células musculares, hasta cientos en las membranas plasmáticas. Las proteínas son las **principales moléculas funcionales** de las membranas, y consisten en **enzimas**, **bombas** y **transportadores**, **canales**, **componentes estructurales, antígenos** (por ejemplo, para la histocompatibilidad) y **receptores** para diversas moléculas. Como cada tipo de membrana posee un complemento diferente de proteínas, no existe una estructura de membrana típica. Las enzimas asociadas con varias membranas diferentes se muestran en el cuadro 40-2.

Las membranas son estructuras dinámicas

Las membranas y sus componentes son estructuras dinámicas. Los lípidos y las proteínas de la membrana experimentan rotación,

CUADRO 40-2 Marcadores enzimáticos de diferentes membranas[a]

Membrana	Enzima
Plasmática	5′-Nucleotidasa
	Adenilil ciclasa
	Na^+-K^+-ATPasa
Retículo endoplasmático	Glucosa-6-fosfatasa
Aparato de Golgi	
Cis	GlcNAc transferasa I
Medio	Golgi mannosidasa II
Trans	Galactosil transferasa
Red de Golgi *Trans*	Sialiltransferasa
Membrana mitocondrial interior	ATP sintasa

[a] Las membranas contienen muchas proteínas, algunas de las cuales tienen actividad enzimática. Algunas de estas enzimas se localizan sólo en ciertas membranas y, por lo tanto, pueden usarse como marcadores para seguir la purificación de dichas membranas.

al igual que lo hacen en otros compartimientos de la célula. Diferentes lípidos tienen distintas velocidades de rotación, un factor que puede variar ampliamente según las especies individuales de proteínas de membrana. En algunos casos, la membrana en sí misma puede girar más rápidamente que cualquiera de sus componentes. Esto se discute con más detalle en la sección sobre endocitosis.

Otro indicador de la naturaleza dinámica de las membranas es que una variedad de estudios han demostrado que los lípidos y ciertas proteínas exhiben **difusión lateral** en sus membranas. De igual modo, muchas proteínas estáticas no muestran difusión lateral porque están ancladas al citoesqueleto de actina subyacente. En contraste, el movimiento transversal de los lípidos a través de la membrana (**flip-flop**) es extremadamente lento (véase más abajo), y no parece ocurrir a un ritmo apreciable en el caso de las proteínas de membrana.

Las membranas son estructuras asimétricas

Las proteínas tienen orientaciones únicas en las membranas, lo cual hace que las **superficies externas sean diferentes de las superficies internas**. La ubicación externa de los carbohidratos unidos a las proteínas de la membrana también proporciona una **asimetría de adentro hacia afuera**. Además, proteínas específicas se encuentran exclusivamente en la parte externa o interna de las membranas.

También hay **heterogeneidades regionales** en las membranas. Algunas, como las que se producen en los bordes vellosos de las células de la mucosa, son casi macroscópicas. Otras, como las que se encuentran en las uniones gap, uniones estrechas y sinapsis, ocupan regiones mucho más pequeñas de la membrana y, en correspondencia, generan asimetrías locales más pequeñas.

También existe una **asimetría de los fosfolípidos** dentro-fuera. Los **fosfolípidos que contienen colina** (fosfatidilcolina y esfingomielina) se encuentran principalmente en el folíolo u **hoja externa**; los **aminofosfolípidos** (fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) se localizan preferentemente en la **hoja interna**. Es obvio que si esta **asimetría lipídica** en realidad existe, debe haber una **movilidad transversal limitada,** o biestable (*flip-flop*) en los fosfolípidos de la membrana. De hecho, los fosfolípidos en bicapas sintéticas exhiben una velocidad extraordinariamente lenta de *flip-flop*; la vida media de la asimetría en estas bicapas sintéticas es de varias semanas.

Los mecanismos implicados en la asimetría de los lípidos no son bien conocidos. Las enzimas que participan en la síntesis de fosfolípidos se localizan en el lado citoplasmático de las vesículas microsomales de membrana. Existen translocaciones (**flipasas**) que transfieren ciertos fosfolípidos (p. ej., fosfatidilcolina) del folíolo interno al externo. Las proteínas específicas que se unen con preferencia a fosfolípidos individuales también parecen estar presentes en los dos folíolos; por tanto, la unión de lípidos también contribuye a la distribución asimétrica de moléculas específicas de lípidos. Además, las **proteínas de intercambio de fosfolípidos** reconocen ciertos fosfolípidos y los transfieren de una membrana (p. ej., la ER) a otras (p. ej., mitocondrial y peroxisomal). Un problema relacionado es el de cómo los lípidos entran a las membranas. Esto no se ha estudiado tanto como la entrada de las proteínas en las membranas (véase capítulo 49), y el conocimiento es aún relativamente escaso. Muchos lípidos de membrana se sintetizan en el retículo endoplásmico ER. Se han reconocido al menos tres vías: 1) transporte desde el ER en vesículas, que luego transfieren los lípidos que contienen a la membrana receptora; 2) entrada a través del contacto directo de una membrana (por ejemplo, el ER) con otra, facilitada por proteínas específicas; y 3) transporte a través de las proteínas de intercambio de fosfolípidos mencionadas anteriormente (también conocidas como proteínas de transferencia de lípidos), que sólo intercambian lípidos, pero no causan transferencia neta.

Existe una asimetría adicional con respecto a glucoesfingolípidos y **glucoproteínas**; los restos de azúcar de estas moléculas so-

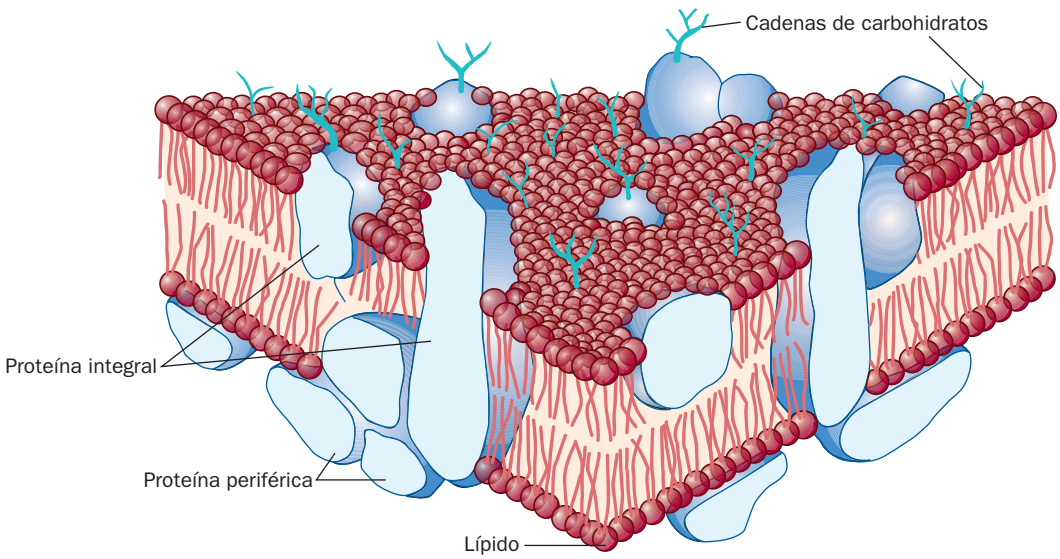


FIGURA 40-7 El modelo del mosaico fluido de la estructura de membrana. La membrana consiste en una capa lipídica bimolecular con proteínas insertadas en ella o unidas a cualquier superficie. Las proteínas integrales de membrana están firmemente integradas en las capas de lípidos. Algunas de estas proteínas abarcan completamente la bicapa y se denominan proteínas transmembrana, mientras que otras están incrustadas en el prospecto externo o interno de la bicapa lipídica. Ajustadas débilmente a la superficie externa o interna de la membrana están las proteínas periféricas. Muchas de las proteínas y todos los glucolípidos tienen cadenas de carbohidratos de oligosacáridos expuestas externamente. (Reproducido, con permiso, de Junqueira LC, Carneiro J: Basic Histology: Text & Atlas, 10ma ed. McGraw-Hill, 2003).

bresalen de la membrana plasmática y están ausentes de su cara interna.

Las membranas contienen proteínas integrales y periféricas

Es útil clasificar las proteínas de membrana en dos tipos: **integrales** y **periféricas** (figura 40-7). La mayoría de las proteínas de membrana caen en la **clase integral**, lo que significa que interactúan ampliamente con los fosfolípidos y **requieren el uso de detergentes** para su solubilización. Además, por lo general abarcan la bicapa como un conjunto de segmentos transmembrana helicoidales. Las proteínas integrales son por lo general globulares y anfipáticas. Consisten en dos extremos hidrófilos separados por una región hidrofóbica intermedia que atraviesa el núcleo hidrofóbico de la bicapa. A medida que se elucidaban las estructuras de las proteínas de membrana integrales, se hizo evidente que algunas (por ejemplo, las moléculas transportadoras, canales iónicos, diversos receptores y proteínas G) abarcan muchas veces la bicapa, mientras que otras proteínas de membrana simples (por ejemplo, glucoforina A) abarcan la membrana una sola vez (véanse las figuras 42-4 y 52-5). Las proteínas integrales se distribuyen asimétricamente a través de la membrana bicapa. Esta orientación asimétrica se confiere en el momento de su inserción en la bicapa lipídica durante la biosíntesis en el ER. Los mecanismos moleculares implicados en la inserción de proteínas en las membranas y el tema del ensamblaje de la membrana se discuten en el capítulo 49.

Las **proteínas periféricas** no interactúan directamente con los núcleos hidrofóbicos de los fosfolípidos en la bicapa, y, por tanto, **no requieren el uso de detergentes** para su liberación. Están unidas a las regiones hidrófilas de proteínas integrales específicas y grupos de cabeza de fosfolípidos, y pueden liberarse de ellos mediante el tratamiento con soluciones salinas de gran fuerza iónica. Por ejemplo, la anquirina, una proteína periférica, está unida al aspecto interno de la proteína integral "banda 3" de la membrana de eritrocitos. La espectrina, una estructura del citoesqueleto dentro del eritrocito, está a su vez unida a la anquirina, y de ese modo juega un papel importante en el mantenimiento de la forma bicóncava del eritrocito.

MEMBRANAS ARTIFICIALES MODELAN LA FUNCIÓN DE LA MEMBRANA

Se pueden preparar sistemas de membrana artificial mediante técnicas apropiadas. Por lo general estos sistemas consisten en mezclas de uno o más fosfolípidos, de origen natural o sintético, que se han tratado usando **sonicación de baja intensidad** para inducir la formación de vesículas esféricas en las que los lípidos forman una bicapa. Tales vesículas, rodeadas por una bicapa lipídica con un interior acuoso, se denominan **liposomas** (véase la figura 21-24).

Las ventajas y usos de los sistemas de membrana artificial para el estudio bioquímico de la función de la membrana son las siguientes:

1. El contenido de lípidos de las membranas se puede variar, lo que permite un examen sistemático de los efectos de la variación de la composición lipídica en ciertas funciones.

2. Las proteínas de membrana purificada, o las enzimas, se pueden incorporar a estas vesículas con el fin de evaluar qué factores requieren las proteínas para reconstituir su función (p. ej., lípidos específicos o proteínas auxiliares).

3. El entorno de estos sistemas se puede controlar de forma estricta, y variarse sistemáticamente (p. ej., concentraciones de iones y ligandos).

4. Cuando se forman los liposomas se puede hacer que atrapen ciertos compuestos dentro de la vesícula, como fármacos y genes aislados. Existe interés en usar liposomas para distribuir fármacos a ciertos tejidos, y si los componentes se pudieran incorporar a los liposomas para que sean dirigidos a tejidos o tumores específicos, el impacto terapéutico sería considerable (p. ej., anticuerpos contra ciertas moléculas en la superficie celular). El DNA atrapado dentro de los liposomas parece ser menos sensible al ataque de las nucleasas; este enfoque podría resultar útil en intentos de terapia génica.

EL MODELO DEL MOSAICO FLUIDO DE LA ESTRUCTURA DE MEMBRANA ES ACEPTADO AMPLIAMENTE

El modelo del mosaico fluido de la estructura de la membrana propuesto en 1972 por Singer y Nicolson (figura 40-7) es ahora aceptado ampliamente. El modelo a menudo se compara con los "icebergs" de proteínas de membrana integrales, que flotan en un mar de moléculas fluidas de fosfolípidos (predominantemente). La evidencia inicial del modelo fue el hallazgo de que las proteínas de membrana integrales bien caracterizadas, marcadas por fluorescencia, se podían ver al microscopio mientras se redistribuían rápida y aleatoriamente dentro de la membrana plasmática de una célula híbrida, formada por la fusión artificial de dos células progenitoras diferentes (de ratón y humana, una marcada y la otra no). Se ha demostrado que los **fosfolípidos** experimentan una difusión lateral aún más rápida, con una posterior redistribución dentro del plano de la membrana, donde una molécula de fosfolípido se puede mover varios micrómetros por segundo, según indican algunas mediciones.

Los **cambios de fase** –y, por tanto, la **fluidez** de las membranas– dependen en gran medida de la composición lipídica de la membrana. En una bicapa de lípidos, las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos se pueden alinear u ordenar para proporcionar una estructura bastante rígida. A medida que la temperatura aumenta, las cadenas laterales hidrofóbicas experimentan una **transición** del **estado ordenado** (más de tipo gel o fase cristalina) a uno desordenado, adoptando una disposición más fluida, o de tipo líquido. La temperatura a la cual la estructura de la membrana sufre la transición ordenado-desordenado (es decir, se funde) se denomina "**temperatura de transición**" (T_m). Las cadenas de ácidos grasos más largas y saturadas interactúan con más fuerza entre sí a través de sus cadenas de hidrocarburos extendidas, y por tanto causan valores más altos de T_m; es decir, se requieren temperaturas más altas para aumentar la fluidez de la bicapa. Por otro lado, los **enlaces insaturados** que existen **en la configuración *cis*** tienden a aumentar la fluidez de la bicapa, al disminuir la compactación del empaquetamiento de la cadena lateral sin disminuir la hidrofobicidad (figuras 40-3 y 40-5). Los fosfolípidos de las membranas celulares por lo general contienen al menos un ácido graso insaturado, con al menos un doble enlace *cis*.

El colesterol actúa como un amortiguador para modificar la fluidez de las membranas. A temperaturas inferiores a T_m interfiere

con la interacción de las colas de los hidrocarburos de ácidos grasos, y por tanto aumenta la fluidez. A temperaturas superiores a T_m limita el desorden, porque es más rígido que las colas de hidrocarburos de los ácidos grasos, y no se puede mover en la membrana con la misma facilidad, limitando o "amortiguando" así la fluidez de la misma.

La fluidez de una membrana afecta significativamente sus funciones. A medida que aumenta la fluidez de la membrana, también lo hace su permeabilidad al agua y a otras pequeñas moléculas hidrófilas. La movilidad lateral de las proteínas integrales se eleva a medida que aumenta la fluidez de la membrana. Si el sitio activo de una proteína integral implicada en una función dada está sólo en sus regiones hidrófilas, el cambio de la fluidez de los lípidos probablemente tendrá poco efecto sobre la actividad de la proteína; sin embargo, si la proteína está involucrada en una función de transporte con componentes que abarcan la membrana, los efectos de la fase lipídica pueden alterar significativamente la velocidad de movimiento. El receptor de insulina (véase la figura 42-8) es un excelente ejemplo de función alterada con cambios en la fluidez. Cuando se incrementa la concentración de ácidos grasos insaturados en la membrana (haciendo crecer células cultivadas en un medio rico en tales moléculas), la fluidez aumenta. El aumento de la fluidez altera el receptor hasta que se une a la insulina de manera más efectiva. A la temperatura corporal normal (37 °C), la bicapa lipídica se encuentra en estado fluido. Haciendo énfasis en la importancia de la fluidez de la membrana, se ha demostrado que las bacterias pueden modificar la composición de sus lípidos de membrana para adaptarse a los cambios de temperatura.

Balsas lipídicas, caveolas y uniones estrechas son características especializadas de las membranas de plasma

Las membranas plasmáticas contienen ciertas estructuras especializadas cuya naturaleza bioquímica ha sido muy investigada. Las

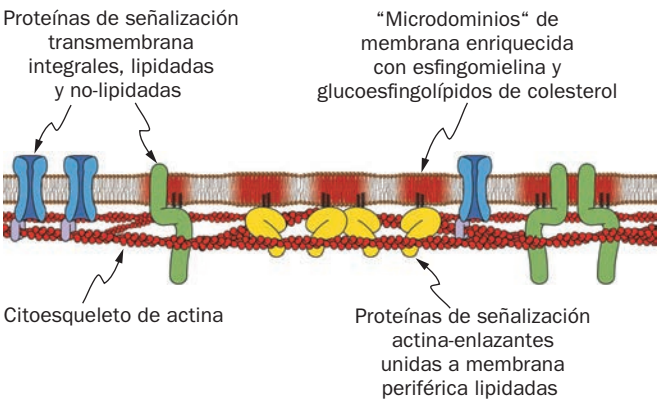


FIGURA 40-8 Diagrama esquemático de una balsa de lípidos. Se muestran en forma esquemática múltiples balsas lipídicas (sombreado de membrana roja) que representan microdominios localizados, ricos en los lípidos indicados y proteínas de señalización (azul, verde, amarillo). Las balsas lipídicas se estabilizan mediante interacciones (directas e indirectas) con el citoesqueleto de actina (cadenas bihelicoidales rojas, véase la figura 51-3). (Figura modificada de: The lipid raft hypothesis revisited—new insights on raft composition and function from super-resolution fluorescence microscopy. Bioessays 2012;34:739-747. Wiley Periodical, Inc. Copyright © 2012).

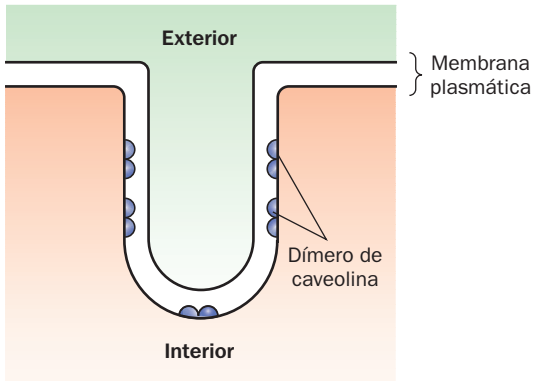


FIGURA 40-9 Diagrama esquemático de una caveola. Una caveola es una invaginación en la membrana plasmática. La proteína caveolina parece jugar un papel importante en la formación de caveolas, y se presenta como un dímero. Cada monómero de caveolina está anclado a la lámina interna de la membrana plasmática por tres moléculas de palmitoil (no mostradas).

balsas lipídicas son áreas especializadas de la hoja **exoplásmica** (**externa**) de la bicapa lipídica enriquecidas con colesterol, esfingolípidos, y ciertas proteínas (figura 40-8). Se ha propuesto como hipótesis que están involucradas en la transducción de señales y otros procesos. Se cree que la agrupación muy unida de ciertos componentes de los sistemas de señalización puede aumentar la eficiencia de su función.

Las **caveolas** pueden provenir de balsas de lípidos. Muchas, si no todas, contienen la proteína caveolina-1, que puede estar formada a partir de las balsas. Las caveolas son observables mediante microscopía electrónica como tubos, o indentaciones de forma tubular, en la membrana celular dentro del citosol (figura 40-9). Las proteínas detectadas en las caveolas incluyen varios componentes del sistema de transducción de señales (por ejemplo, el receptor de insulina y algunas proteínas G, véase el capítulo 42), el receptor de folato, y la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS). Las caveolas y las balsas lipídicas son áreas activas de investigación, y las ideas sobre ellas y sus funciones en diversos procesos biológicos están evolucionando rápidamente.

Las **uniones estrechas,** o impermeables, son otras estructuras que se encuentran en las membranas superficiales. A menudo se localizan debajo de las superficies apicales de las células epiteliales, y evitan la difusión de macromoléculas entre las células. Están compuestas de varias proteínas, incluyendo ocludina, varias claudinas y moléculas de adhesión de unión.

Sin embargo, otras estructuras especializadas que se encuentran en las membranas superficiales incluyen **desmosomas**, **uniones adherentes** y **microvellosidades**; su naturaleza y funciones químicas no se discuten aquí. La naturaleza de las **uniones gap** se describe a continuación.

LA SELECTIVIDAD DE LA MEMBRANA PERMITE AJUSTES DE LA COMPOSICIÓN Y FUNCIÓN CELULAR

Si la membrana plasmática es relativamente impermeable, ¿cómo entran la mayoría de las moléculas en una célula? ¿Cómo se esta-

blece la selectividad de este movimiento? Las respuestas a estas preguntas son importantes para comprender cómo las células se adaptan a un entorno extracelular que cambia constantemente. Los organismos metazoos también deben tener medios de comunicación entre células adyacentes y distantes, de modo que se puedan coordinar procesos biológicos complejos. Estas señales deben llegar y ser transmitidas por la membrana, o se deben generar como consecuencia de alguna interacción con la membrana. Algunos de los principales mecanismos utilizados para lograr estos diferentes objetivos se enumeran en el cuadro 40-3.

La difusión pasiva que involucra transportadores y canales iónicos mueve muchas moléculas pequeñas a través de las membranas

Las moléculas pueden atravesar **pasivamente** los gradientes electroquímicos bicapa por **difusión simple** o por **difusión facilitada**. Este movimiento espontáneo hacia el equilibrio contrasta con el transporte activo, que **requiere energía** porque constituye un movimiento contra un gradiente electroquímico. La figura 40-10 proporciona una representación esquemática de estos mecanismos.

La **difusión simple** es el flujo pasivo de un soluto desde una concentración más alta a una menor, debido al movimiento térmico aleatorio. Por el contrario, la difusión facilitada es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta a una menor, mediada por un transportador de proteínas específico. El **transporte activo** es el movimiento vectorial de un soluto a través de una membrana contra un gradiente de concentración, y por tanto requiere energía (con frecuencia derivada de la hidrólisis del adenosina trifosfato ATP); en ese proceso está involucrado un transportador específico (**bomba**).

CUADRO 40-3 Transferencia de material e información a través de las membranas

Movimiento de cruce de membrana de moléculas pequeñas
Difusión (pasiva y facilitada)
Transporte activo
Movimiento de cruce de membrana de moléculas grandes
Endocitosis
Exocitosis
Transmisión de señales a través de las membranas
Receptores de superficie celular
1. Transducción de señal (p. ej., glucagón → cAMP) 2. Internalización de la señal (acoplado con endocitosis, por ejemplo, el receptor LDL)
Movimiento a receptores intracelulares (hormonas esteroides, una forma de difusión)
Contacto intercelular y comunicación
La dispersión pasiva (simple) es el flujo de soluto desde una concentración más alta a una menor debido al movimiento térmico aleatorio
La diseminación facilitada es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta a una concentración más baja, mediada por un transportador de proteínas específico
El transporte activo es el transporte de un soluto a través de una membrana en la dirección del aumento de la concentración, y por tanto requiere energía (con frecuencia derivada de la hidrólisis del ATP); un transportador específico (bomba) está involucrado
Microvesícula extracelular y secreción y captación de exosomas

Los otros términos utilizados en este cuadro se explican más adelante en este capítulo o en otro lugar del texto.

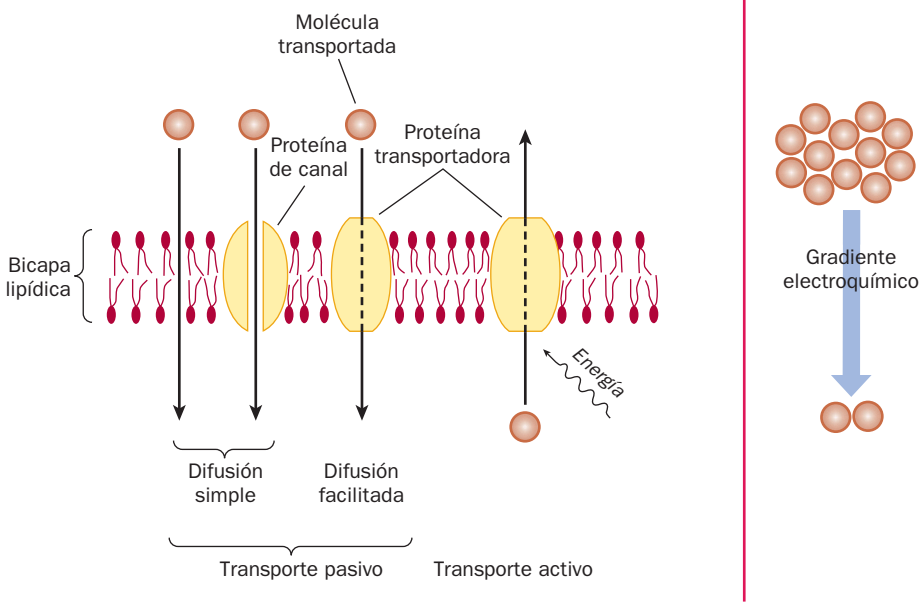


FIGURA 40-10 Muchas moléculas pequeñas sin carga pasan libremente a través de la bicapa lipídica por difusión simple. Moléculas grandes no cargadas, y algunas pequeñas no cargadas, son transferidas por proteínas transportadoras específicas (transportadores), o a través de canales o poros. El transporte pasivo siempre está hacia abajo de un gradiente electroquímico, hacia el equilibrio (mostrado esquemáticamente, a la derecha). El transporte activo está en contra de un gradiente electroquímico y requiere una entrada de energía, mientras que el transporte pasivo no lo hace. (Redibujado y reproducido, con permiso, de Alberts B, *et al*: *Molecular Biology of the Cell*. Garland, 1983).

Como se mencionó anteriormente en este capítulo, algunos solutos, como los gases, pueden ingresar a la célula mediante la difusión de un gradiente electroquímico a través de la membrana, y no requieren energía metabólica. La difusión simple de un soluto a través de la membrana está limitada por tres factores: 1) la agitación térmica de esa molécula específica; 2) el gradiente de concentración a través de la membrana; y 3) la solubilidad de ese soluto en el núcleo hidrofóbico de la membrana bicapa (el coeficiente de permeabilidad, figura 40-6). La solubilidad es inversamente proporcional al número de enlaces de hidrógeno que se deben romper para que un soluto en la fase acuosa externa se incorpore en la bicapa hidrofóbica. Los electrolitos, poco solubles en lípidos, no forman enlaces de hidrógeno con el agua, pero adquieren una capa de agua de hidratación por interacción electrostática. El tamaño de la capa es directamente proporcional a la densidad de carga del electrolito. Los electrolitos con una gran densidad de carga tienen una mayor capa de hidratación, y por tanto una velocidad de difusión más lenta. Por ejemplo, el Na^+ tiene una densidad de carga mayor que el K^+. Por tanto, el Na^+ hidratado es más grande que el K^+ hidratado; luego este último tiende a moverse más fácilmente a través de la membrana.

Los transportadores son proteínas específicas involucradas en la difusión facilitada y también en el transporte activo

Los sistemas de transporte se pueden describir en un sentido funcional de acuerdo con el número de moléculas que se mueven y la dirección del movimiento (figura 40-12), o según si el movimiento es hacia o desde el equilibrio. La **clasificación** siguiente depende en lo principal del primer método. Un sistema **uniporte** mueve un tipo de molécula bidireccionalmente. En los sistemas de **cotransporte**, la transferencia de un soluto depende de la transferencia estequiométrica, simultánea o secuencial, de otro soluto. Un **simporte** mueve dos solutos en la misma dirección. Ejemplos son el transportador de protón-azúcar en las bacterias y los transportadores de Na^+-azúcar (para la glucosa y algunos otros azúcares), y los transportadores Na^+-aminoácidos en células de mamíferos. Los sistemas **antiporte** mueven dos moléculas en direcciones opuestas (p. ej., Na^+ hacia adentro y Ca^{2+} hacia afuera).

Las moléculas hidrofílicas que no pueden pasar libremente a través de la membrana bicapa lipídica lo hacen pasivamente por **difusión facilitada**, o por **transporte activo**. El transporte pasivo es impulsado por el gradiente transmembrana de sustrato. El transporte activo siempre ocurre contra un gradiente eléctrico o químico, por lo que requiere energía, por lo general en forma de ATP. Ambos tipos de transporte implican **proteínas transportadoras específicas** (transportadores) y ambos muestran **especificidad** por iones, azúcares y aminoácidos. Los transportes pasivos y activos se parecen a una interacción sustrato-enzima. Los puntos de semejanza de ambos con la acción de la enzima son los siguientes: 1) Existe un sitio de unión específico para el soluto. 2) El portador es saturable, por lo que tiene una velocidad máxima de transporte (V_{max}, figura 40-13). 3) Hay una constante de enlace (K_m) para el soluto, por lo que todo el sistema tiene una K_m (figura 40-13). 4) Inhibidores competitivos con estructura similar bloquean el transporte. Los transportadores son como enzimas, pero por lo general no modifican sus sustratos.

Los cotransportadores usan el gradiente de un sustrato creado por transporte activo para controlar el movimiento del otro sustrato. El gradiente de Na^+ producido por la Na^+-K^+-ATPasa se usa para impulsar el transporte de varios metabolitos importantes. La ATPasa es un ejemplo muy importante de **transporte primario**, mientras que los sistemas dependientes de Na^+ son ejemplos de **transporte**

CUADRO 40-4 Comparación de transportadores y canales de iones

Transportadores	Canales iónicos
Enlazan el soluto y realizan cambios conformacionales, transfiriendo el soluto a través de la membrana	Forman poros en las membranas
Implicados en el transporte pasivo (distribución facilitada) y activo	Involucrados sólo en el transporte pasivo
El transporte es significativamente más lento que a través de los canales iónicos	El transporte es significativamente más rápido que a través de los transportadores

Nota: Los transportadores también se conocen como portadores o permeasas. A menudo los transportadores activos son llamados bombas.

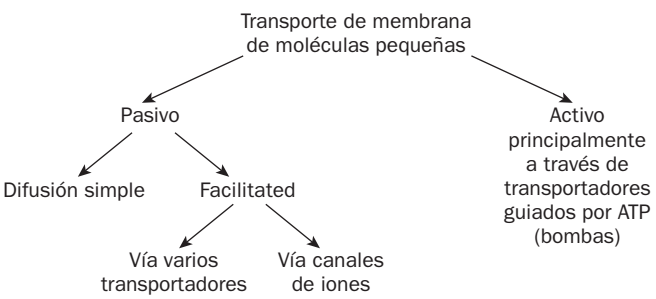


FIGURA 40-11 Diagrama esquemático de los dos tipos de transporte de membrana de moléculas pequeñas.

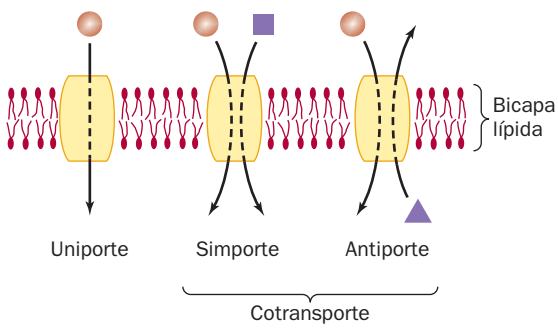


FIGURA 40-12 Representación esquemática de los tipos de sistemas de transporte. Los transportadores se pueden clasificar con respecto a la dirección del movimiento, y de si se mueven una o más moléculas de cada tipo. Un sistema uniporte también puede permitir el movimiento en la dirección opuesta, dependiendo de las concentraciones dentro y fuera de la célula de la molécula transportada. (Redibujado y reproducido, con permiso, de Alberts B, *et al*: Molecular Biology of the Cell. Garland, 1983).

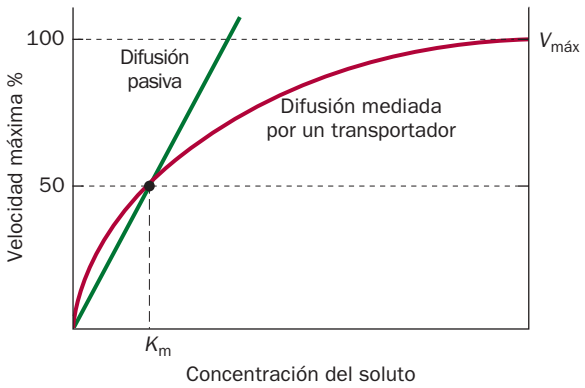


FIGURA 40-13 Una comparación entre la cinética de la difusión mediada (facilitada) por un transportador y de la difusión pasiva. La velocidad de movimiento en esta última es directamente proporcional a la concentración del soluto, mientras que el proceso es saturable cuando participa un transportador. La concentración a la mitad de la velocidad máxima es igual a la constante de unión (*K*m) del transportador para el soluto. ($V_{máx}$, velocidad máxima.)

secundario, que dependen del gradiente producido por otro sistema. Por tanto, la inhibición de la Na^+-K^+-ATPasa en las células también bloquea la absorción de sustancias como la glucosa, que depende del Na^+.

La difusión facilitada está mediada por una variedad de transportadores específicos

Algunos solutos específicos difunden gradientes electroquímicos a través de las membranas con más rapidez de lo que podría esperarse de su tamaño, carga o coeficiente de partición. Esto se debe a que están involucrados transportadores específicos. Esta **difusión facilitada** exhibe propiedades distintas de las de difusión simple. La velocidad de difusión facilitada, un sistema uniporte, se puede saturar; es decir, el número de sitios implicados en la difusión de los solutos específicos parece ser finito. Muchos sistemas de difusión facilitados son estereoespecíficos, pero al igual que la difusión simple, están impulsados por el gradiente electroquímico transmembrana.

Un **mecanismo de "ping-pong"** (figura 40-14) ayuda a explicar la difusión facilitada. En este modelo, la proteína transportadora existe en dos conformaciones principales. En el estado "**ping**", está expuesto a altas concentraciones de soluto, y las moléculas del soluto se unen a sitios específicos en la proteína transportadora. La unión induce un cambio conformacional que expone al portador a una menor concentración de soluto (estado "**pong**"). Este proceso es completamente reversible, y el flujo neto a través de la membrana depende del gradiente de concentración. La velocidad a la que los solutos entran en una célula mediante difusión facilitada se determina por 1) el gradiente de concentración a través de la membrana, 2) la cantidad de transportador disponible (este es un paso de control clave), 3) la afinidad de la interacción soluto-portador y, 4) la rapidez del cambio conformacional para el portador cargado y el portador descargado.

Las **hormonas** pueden regular la difusión facilitada cambiando la cantidad de transportadores disponibles. La insulina, a través de una ruta de señalización compleja, aumenta el transporte de glucosa en la grasa y los músculos mediante el reclutamiento de **transportadores de glucosa** (GLUT) desde un reservorio intracelular. La insulina también mejora el transporte de aminoácidos en el hígado y otros tejidos. Una de las acciones coordinadas de las hormonas glucocorticoides es mejorar el transporte de aminoácidos al hígado, donde los aminoácidos sirven como sustrato para la gluconeogénesis. La hormona del crecimiento aumenta el transporte de aminoácidos en todas las células, y los estrógenos lo hacen en el útero. Existen al menos cinco sistemas diferentes de vehículos para aminoácidos en células animales. Cada uno es específico para un

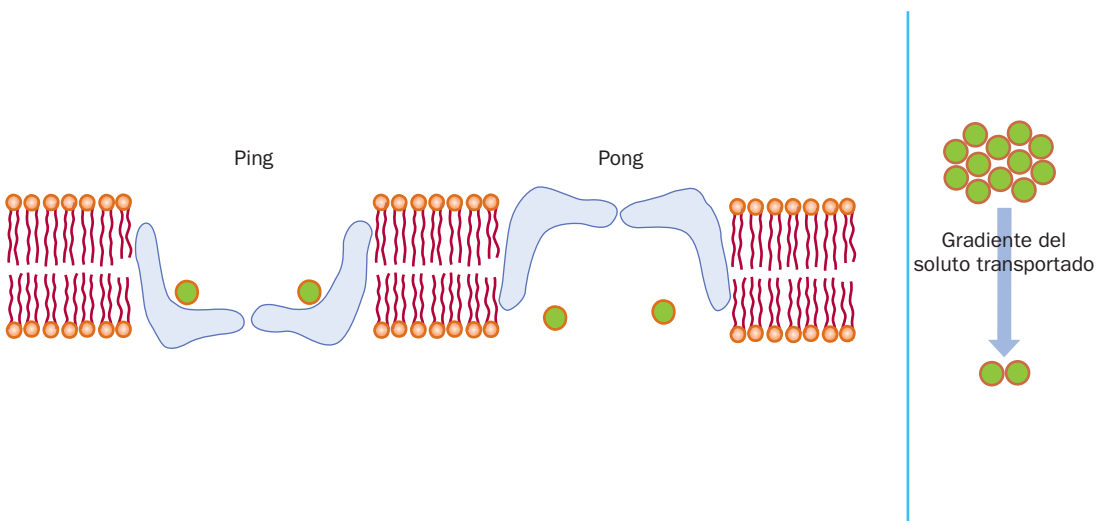


FIGURA 40-14 El modelo "ping-pong" de difusión facilitada. Un transportador de proteínas (estructura azul) en la bicapa lipídica se asocia con un soluto en alta concentración en un lado de la membrana. Se produce un cambio conformacional ("ping" a "pong"), y el soluto se descarga en el lado que favorece el nuevo equilibrio (el gradiente de concentración del soluto se muestra en esquema a la derecha). El portador vacío luego vuelve a la conformación original (de "pong" a "ping") para completar el ciclo.

grupo de aminoácidos muy relacionados, y la mayoría opera como sistemas de simulación del Na^+ (figura 40-12).

Los canales iónicos son proteínas transmembrana que permiten la entrada selectiva de varios iones

Las membranas naturales contienen canales transmembrana, estructuras similares a poros, compuestas por proteínas que constituyen **canales iónicos** selectivos. Los canales conductores de cationes poseen un diámetro promedio de 5 a 8 nm aproximadamente. La **permeabilidad** de un canal depende del tamaño, la extensión de la hidratación y la extensión de la densidad de carga en el ion. Se han identificado canales específicos para Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-. La subunidad α funcional del canal Na^+ se ilustra en el esquema de la figura 40-15. La subunidad α está compuesta por cuatro dominios (I-IV), cada uno de los cuales está formado por seis α-hélices contiguas transmembrana; cada uno de estos dominios está conectado por bucles intra- y extra-celulares de longitud variable. Los términos amino y carboxi de la subunidad α se encuentran en el citoplasma. El poro real en el canal, a través del cual pasan los iones Na^+, está formado por interacciones entre los cuatro dominios, generando una estructura terciaria por interacciones entre los cuatro conjuntos de 5,6 α-hélices de dominios I a IV. Los canales de Na^+ a menudo son **sensibles al voltaje** o están **controlados** por compuertas (*gated*); el sensor de voltaje del canal se forma mediante la interacción de los dominios I a IV; las cuatro α-hélices-4 se forman cuando los dominios I a IV interactúan. Este poro de ~5-8 nm constituye el centro de la estructura del canal terciario.

Los canales iónicos son muy **selectivos**; en la mayoría de los casos permiten el paso de un solo tipo de iones (Na^+, Ca^{2+}, etc.). El **filtro de selectividad** de los canales de K^+ se compone de un anillo de grupos carbonilo donados por las subunidades. Los carbonilos desplazan el agua ligada del ion, y por tanto restringen su tamaño a dimensiones precisas, apropiadas para el paso a través del canal. Se han descrito muchas variaciones en el tema estructural detallado anteriormente para el canal de Na^+. Sin embargo, todos los canales iónicos están integrados básicamente por subunidades transmembrana, que se unen para formar un poro central a través del cual los iones pasan de manera selectiva.

Las membranas de las células nerviosas contienen canales iónicos bien estudiados que son responsables de la generación de potenciales de acción. La actividad de algunos de estos canales está controlada por neurotransmisores; por tanto, la actividad del canal se puede regular.

Los canales de iones están abiertos de forma transitoria y, por tanto, "**controlados**", dado que las compuertas se pueden controlar abriendo o cerrando. En los **canales controlados por ligandos**, una molécula específica se une a un receptor y abre el canal. Los **canales controlados por voltaje** se abren (o cierran) en respuesta a cambios en el potencial de membrana. Los **canales controlados mecánicamente** responden a estímulos mecánicos (presión y tacto). Algunas propiedades de los canales iónicos se enumeran en los cuadros 40-4 y 40-5.

Los estudios detallados de un canal de k^+ y de un canal controlado por voltaje han proporcionado una visión más profunda de sus acciones

Hay al menos cuatro características de los canales iónicos que se deben dilucidar: 1) sus estructuras generales; 2) cómo conducen los iones tan rápidamente; 3) su selectividad; y 4) sus propiedades

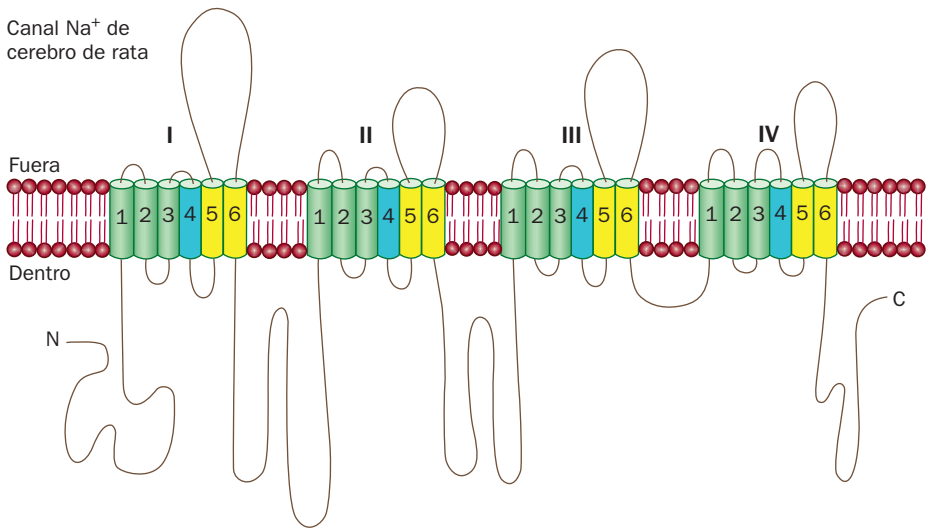


FIGURA 40-15 Representación diagramática de las estructuras de un canal iónico (un canal de Na^+ de cerebro de rata). Los números romanos indican los cuatro dominios (I-IV) de la subunidad α del canal Na^+. Los dominios transmembrana α-helicoidales de cada una de las partes están numerados del 1 al 6. Las cuatro subunidades sombreadas en azul en los diferentes dominios representan la porción de detección de voltaje de la subunidad α. El poro real a través del cual pasan los iones (Na^+) no se muestra, pero se forma por la yuxtaposición de las hélices α transmembrana 5 y 6 de los dominios I a IV (amarillo coloreado). Las áreas específicas de las subunidades involucradas en la apertura y cierre del canal tampoco están indicadas. (Según WK Catterall. Modificado y reproducido, con permiso, de Hall ZW: *An Introduction to Molecular Neurobiology.* Sinauer, 1992).

CUADRO 40-5 Algunas propiedades de los canales de iones

- Están compuestos de subunidades de proteínas transmembrana.
- La mayoría son altamente selectivos para un ion; unos pocos son no selectivos.
- Permiten que los iones impermeables atraviesen las membranas a velocidades que se acercan a los límites de difusión.
- Pueden permitir flujos de iones de 10^6-10^7/s.
- Sus actividades están reguladas.
- Los principales tipos son los controlados por voltaje, controlados por ligando y controlados mecánicamente.
- Por lo general están muy conservados a través de todas las especies.
- La mayoría de las células tienen una variedad de canales Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-.
- Las mutaciones en los genes que los codifican pueden causar enfermedades específicas.[a]
- Sus actividades se ven afectadas por ciertos medicamentos.

[a]Algunas enfermedades causadas por mutaciones en los canales iónicos se discuten brevemente en el capítulo 49.

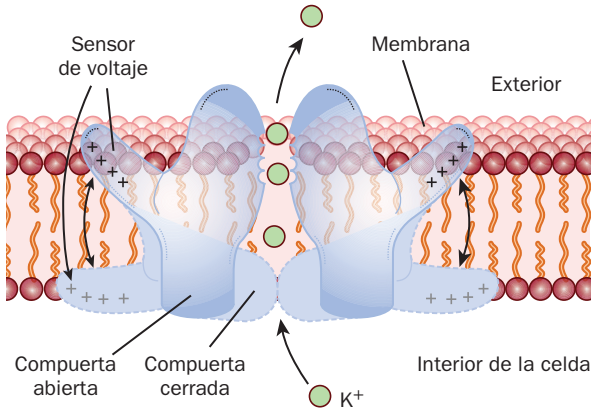


FIGURA 40-17 Diagrama esquemático del canal K^+ activado por voltaje del *Aeropyrum pernix*. Los sensores de voltaje se comportan como remos cargados que se mueven a través del interior de la membrana. Cuatro sensores de voltaje (sólo dos se muestran aquí) están vinculados mecánicamente a la compuerta del canal. Cada sensor tiene cuatro cargas positivas aportadas por residuos de arginina. (Modificado, con permiso, de Sigworth FJ: Nature 2003;423:21. Copyright © 2003. Macmillan Publishers Ltd.).

de compuerta. Como se describe a continuación, se han realizado progresos considerables para abordar estos difíciles problemas.

El **canal K^+** (KvAP) es una proteína de membrana integral compuesta por cuatro subunidades idénticas, cada una con dos segmentos transmembrana que crean una estructura invertida **tipo "V"** (figura 40-16). La parte de los canales que confiere selectividad iónica (el **filtro de selectividad**) mide 12 Å de largo (una longitud relativamente corta de la membrana, por lo que el K^+ no tiene que viajar mucho en la membrana) y está situado en el extremo ancho de la "V" invertida. La gran cavidad llena de agua, y los dipolos helicoidales mostrados en la figura 40-16, ayudan a superar la barrera de energía electrostática, relativamente grande para que un

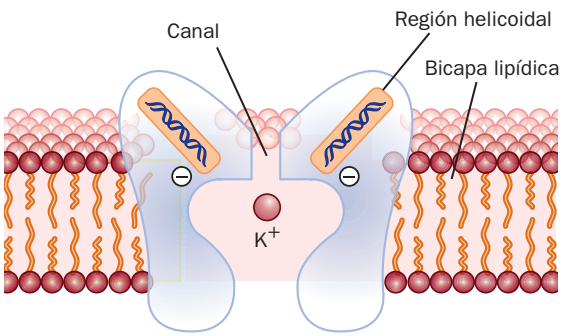


FIGURA 40-16 Diagrama esquemático de la estructura de un canal K^+ (KvAP) del *Streptomyces lividans*. Un solo K^+ se muestra en una gran cavidad acuosa dentro del interior de la membrana. Dos regiones helicoidales de la proteína del canal están orientadas con sus extremos de carboxilato apuntando hacia donde se ubica el K^+. El canal está cubierto por oxígeno de carboxilo. (Modificado, con permiso, de Doyle DA, *et al*: The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. Science 1998;280:6. Reproducido con autorización de AAAS).

catión atraviese la membrana. El filtro de selectividad está revestido con átomos de oxígeno de carbonilo (a lo que contribuye una secuencia TVGYG), proporcionando una serie de sitios con los que el K^+ puede interactuar. Los iones K^+, que se deshidratan cuando entran en el filtro de selectividad angosto, encajan con la coordinación adecuada en el filtro, pero el Na^+ es demasiado pequeño para interactuar con los átomos de carbonilóxido en la alineación correcta, y es rechazado. Dos iones K^+, cuando están cerca uno del otro en el filtro, se repelen entre sí. Esta repulsión supera las interacciones entre los K^+ y la molécula de proteína circundante, y permite la conducción rápida del K^+ con alta selectividad.

Otros estudios sobre un canal iónico dependiente de voltaje (HvAP) en el *Aerirum pernix* han revelado muchas características de sus mecanismos de detección y activación de voltaje. Este canal se compone de cuatro subunidades, cada una con seis segmentos transmembrana. Uno de los seis segmentos (S4 y parte de S3) es el sensor de voltaje. Se comporta como un **remo cargado** (figura 40-17), ya que puede moverse a través del interior de la membrana transfiriendo cuatro cargas positivas (debido a cuatro residuos Arg en cada subunidad) de una superficie de membrana a otra, en respuesta a los cambios de voltaje. En cada canal hay cuatro sensores de voltaje vinculados a la compuerta. La parte de compuerta del canal está construida a partir de hélices S6 (una de cada subunidad). Los movimientos de esta parte del canal, en respuesta a un voltaje cambiante, lo cierran con efectividad o lo vuelven a abrir; en este último caso permiten que una corriente de iones cruce la membrana.

Los ionóforos son moléculas que actúan como intercambiadores de membrana para diversos iones

Ciertos microbios sintetizan pequeñas moléculas orgánicas cíclicas, **ionóforos como la valinomicina,** que funcionan como intercambiadores para el movimiento de iones a través de las membra-

nas (K^+ en el caso de la valinomicina). Los ionóforos contienen centros hidrofílicos que están rodeados por regiones hidrofóbicas periféricas. Iones específicos se unen dentro del centro hidrófilo de la molécula, que después se difunde a través de la membrana, entregando con eficiencia el ión en cuestión al citosol. Otros ionóforos (el polipéptido antibiótico **gramicidina**) se pliegan para formar canales huecos, a través de los cuales los iones pueden atravesar la membrana.

Las toxinas microbianas, como la toxina diftérica y los componentes del complemento del sistema activado, pueden producir grandes poros en las membranas celulares y por tanto proporcionar a las macromoléculas un acceso directo al medio interno. La toxina **α-hemolisina** (producida por ciertas especies de *Streptococcus*) consiste en siete subunidades que se unen para formar un barril-β, que permite que metabolitos como el ATP se filtren fuera de las células, dando como resultado la lisis celular.

Las acuaporinas son proteínas que forman canales de agua en ciertas membranas

En ciertas células (p. ej., glóbulos rojos y células de los conductos colectores del riñón), el movimiento del agua por difusión simple se ve aumentado por el movimiento a través de los canales de agua. Estos canales están compuestos por proteínas transmembrana tetraméricas denominadas **acuaporinas**. Se han identificado al menos 10 acuaporinas distintas (AP-1 a AP-10). Los estudios cristalográficos y otros han revelado cómo estos canales permiten el paso del agua, pero excluyen el paso de iones y protones. En esencia, los poros son demasiado estrechos para permitir el paso de iones. Los protones se excluyen por el hecho de que el átomo de oxígeno del agua se une a dos residuos de asparagina que recubren el canal, lo que resta disponibilidad al agua para participar en el relevo del H^+, evitando así la entrada de protones. Las mutaciones en el gen que codifica la AP-2 han mostrado ser la causa de un tipo de **diabetes insípida nefrogénica**, una afección en la que no hay habilidad para concentrar la orina.

LOS SISTEMAS ACTIVOS DE TRANSPORTE REQUIEREN UNA FUENTE DE ENERGÍA

El proceso de transporte activo difiere de la difusión en que las moléculas se transportan contra gradientes de concentración; por tanto se requiere energía. Esta energía puede provenir de la hidrólisis del ATP, del movimiento de los electrones, o de la luz. El **mantenimiento de los gradientes electroquímicos** en los sistemas biológicos es tan importante que consume aproximadamente **30% del gasto total de energía** en una célula.

Como se muestra en el cuadro 40-6, se han reconocido **cuatro clases principales de transportadores de conducción ATP (transportadores P, F, V** y **ABC)**. La nomenclatura se explica en la leyenda del cuadro. El primer ejemplo de la clase P, el Na^+-K^+-ATPasa, se analiza a continuación. La Ca^{2+} ATPasa del músculo se trata en el capítulo 51. La segunda clase se conoce como tipo F. El ejemplo más importante de esta clase es la mt ATP sintasa, descrita en el capítulo 13. Los transportadores activos de tipo V bombean protones en los lisosomas y otras estructuras. Los transportadores ABC incluyen la proteína **CFTR**, un canal de cloruro implicado en la causa de la fibrosis quística (que se describe más adelante en este capítulo y en el capítulo 58). Otro miembro importante de esta clase es la proteína multifármaco-resistencia-1 (proteína **MDR-1**). Este transportador bombeará diversos medicamentos, incluyendo muchos agentes anticancerígenos, hacia afuera de las células. Es una causa muy importante de células cancerosas que muestran resistencia a la quimioterapia, aunque muchos otros mecanismos también están implicados (ver capítulo 56).

CUADRO 40-6 Tipos principales de transportadores activos controlados por ATP

Tipo	Ejemplo con ubicación subcelular
Tipo P	Ca^{2+} ATPasa (SR); Na^+-K^+-ATPasa (PM)
Tipo F	mt ATP sintasa de la fosforilación oxidativa
Tipo V	ATPasa que bombea protones en lisosomas y vesículas sinápticas
Transportador ABC	Proteína CFTR (PM); Proteína MDR-1 (PM)

Abreviaturas: CFTR, proteína reguladora transmembrana de la fibrosis quística, un transportador de Cl^-, y la proteína implicada en la causa de la fibrosis quística (véase más adelante en este capítulo y también en el capítulo 57); Proteína MDR-1 (proteína multifármaco-resistencia-1), una proteína que bombea muchos agentes quimioterapéuticos desde las células cancerosas, y por tanto, es un importante contribuyente a la resistencia de ciertas células cancerosas al tratamiento; mt, mitocondrial; PM, membrana plasmática; SR, retículo sarcoplásmico del músculo.
P (en tipo P) significa fosforilación (estas proteínas se autofosforilan).
F (en tipo F) significa factores de acoplamiento de energía.
V (en tipo V) significa vacuolar.
ABC significa transportador de cápsulas de unión a ATP (todos tienen dos dominios de unión a nucleótidos y dos segmentos transmembrana).

La Na^+-K^+-ATPasa de la membrana plasmática es una enzima clave en la regulación de las concentraciones intracelulares de Na^+ y K^+

Como se muestra en el cuadro 40-1, las células mantienen una baja concentración de Na^+ intracelular y una alta concentración intrace-

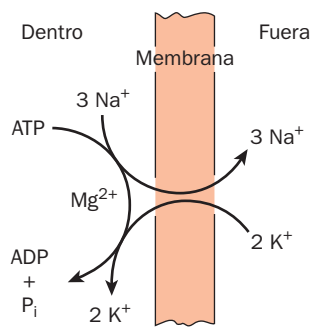


FIGURA 40-18 Estequiometría de la bomba Na^+-K^+-ATPasa. Esta bomba mueve tres iones Na^+ desde el interior de la célula hacia el exterior, y aporta dos iones K^+ desde el exterior hacia el interior de cada molécula de ATP hidrolizada a ADP por la ATPasa asociada a la membrana. La ouabaína y otros glucósidos cardiacos inhiben esta bomba al actuar sobre la superficie extracelular de la membrana. (Reproducido con permiso de R Post).

lular de K^+, junto con un potencial eléctrico neto negativo en el interior. La bomba que mantiene estos gradientes iónicos es una ATPasa que se activa por Na^+ y K^+ (**Na^+-K^+-ATPasa**). La Na^+-K^+-ATPasa bombea tres Na^+ hacia afuera y dos K^+ hacia adentro de las células (figura 40-18). Esta bomba es una proteína constituyente de membrana, con un dominio transmembrana que permite el paso de iones, y dominios citosólicos que acoplan la hidrólisis de ATP para el transporte. Hay centros catalíticos para ATP y Na^+ en el lado citoplásmico (interno) de la membrana plasmática (PM), y sitios de unión a K^+ ubicados en el lado extracelular de la membrana. La fosforilación por ATP induce un cambio conformacional en la proteína, que conduce a la transferencia de tres iones Na^+ del lado interno al externo de la membrana plasmática. Las dos moléculas de K^+ se unen a los sitios de la proteína en la superficie externa de la membrana celular, lo cual provoca la desfosforilación de la proteína y la transferencia de los iones K^+ a través de la membrana hacia el interior. Por tanto, se transportan tres iones de Na^+ hacia afuera por cada dos iones K^+ que entran. Este transporte diferencial de iones crea un desequilibrio de carga entre el interior y el exterior de la celda, lo que hace que su interior sea más negativo (efecto electrogénico). Dos fármacos cardiacos de importancia clínica, cafeína y digital, inhiben la Na^+-K^+-ATPasa uniéndose al dominio extracelular. Esta enzima puede consumir cantidades significativas de energía ATP celular. La Na^+-K^+-ATPasa se puede acoplar a varios otros transportadores, como los que participan en el transporte de la glucosa (ver a continuación).

LA TRANSMISIÓN DE IMPULSOS NERVIOSOS IMPLICA CANALES IÓNICOS Y BOMBAS

La membrana que encierra a las **células neuronales** mantiene una asimetría de voltaje dentro-fuera (potencial eléctrico), y también es **excitable eléctricamente** debido a la presencia de canales regulados por voltaje. Cuando se estimulan en forma apropiada mediante una señal química mediada por un receptor específico de membrana sináptica, los canales en esta se abren para permitir el influjo rápido de Na^+ o Ca^{2+} (con o sin la salida de K^+), de modo que la diferencia de voltaje se colapsa rápidamente, y ese segmento de la membrana se **despolariza** (véase la discusión sobre la transmisión de señales bioquímicas, más adelante). Sin embargo, como resultado de la acción de las bombas de iones en la membrana, el gradiente se restablece rápidamente.

Cuando áreas grandes de la membrana se despolarizan de este modo, la perturbación electroquímica se propaga en forma de ondas por la membrana, generando un impulso nervioso. Las **hojas de mielina**, formadas por células de Schwann, envuelven las fibras nerviosas y proporcionan un **aislante eléctrico** que rodea la mayor parte del nervio y acelera la propagación de la onda (señal), al permitir que los iones entren y salgan de la membrana sólo donde la membrana está libre del aislamiento (en los nodos de Ranvier). La membrana de mielina tiene un alto contenido lipídico que explica su excelente propiedad aislante. Relativamente pocas proteínas se encuentran en la membrana de mielina; las presentes parecen mantener unidas múltiples bicapas de membrana para formar la estructura aislante hidrofóbica, que es impermeable a los iones y al agua. Ciertas enfermedades, por ejemplo la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré, se caracterizan por la desmielinización y alteración de la conducción nerviosa.

EL TRANSPORTE DE GLUCOSA INVOLUCRA DIVERSOS MECANISMOS

Una discusión sobre el transporte de glucosa resume muchos de los puntos discutidos anteriormente. La glucosa debe ingresar a las células como el primer paso en el uso de la energía. Varios transportadores de glucosa (GLUT) están implicados y varían en diferentes tejidos (ver cuadro 19-2). En los adipocitos y el músculo esquelético, la glucosa entra en un sistema de transporte específico (GLUT4) potenciado por la insulina. Los cambios en el transporte se deben, en esencia, a alteraciones del V_{max} (presumiblemente de más o menos transportadores), pero también pueden estar involucrados cambios en la K_m.

El transporte de glucosa en el intestino delgado implica algunos aspectos diferentes de los principios de transporte discutidos con anterioridad. La glucosa y el Na^+ se unen a diferentes sitios en un exportador Na^+-glucosa ubicado en la superficie apical. El Na^+ se mueve dentro de la celda por su gradiente electroquímico y "arrastra" la glucosa con él (figura 40-19). Por tanto, cuanto mayor es el gradiente de Na^+ más glucosa ingresa; si el Na^+ en el fluido extracelular es bajo, el transporte de glucosa se detiene. Para mantener un gradiente pronunciado de Na^+, este simportador de Na^+-glucosa depende de los gradientes generados por la Na^+-K^+-ATPasa, que sostiene una baja concentración de Na^+ intracelular. Mecanismos similares se usan para transportar otros azúcares y aminoácidos a través del lumen apical en células polarizadas, como las que se encuentran en el intestino y el riñón. En este caso el movimiento

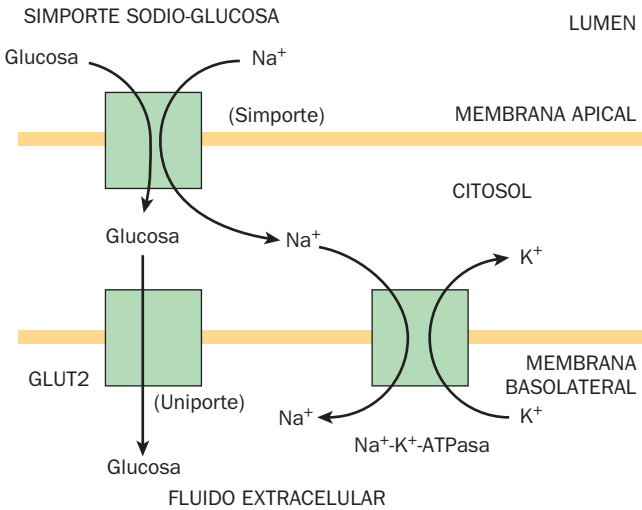


FIGURA 40-19 El movimiento transcelular de la glucosa en una célula intestinal. La glucosa sigue al Na^+ a través de la membrana epitelial luminal. El gradiente de Na^+ que impulsa este simporte se establece mediante el intercambio de Na^+-K^+, que se produce en la membrana basolateral que mira al compartimiento de fluido extracelular, mediante la acción de la Na^+-K^+-ATPasa. La glucosa a alta concentración dentro de la célula se mueve "cuesta abajo" al líquido extracelular por difusión facilitada (un mecanismo uniporte), a través del GLUT2 (un transportador de glucosa, consulte el cuadro 19-2). El simporte sodio-glucosa en realidad lleva 2 Na^+ por cada glucosa.

transcelular de la glucosa implica un componente adicional uniporte, que permite que la glucosa acumulada dentro de la célula se mueva a través de la membrana basolateral, e involucre un uniporte de glucosa (GLUT2) (figura 40-19).

El tratamiento de casos severos de **diarrea** (como el encontrado en el cólera) hace uso de la información anterior. En el cólera (ver capítulo 57) se pueden evacuar cantidades masivas de líquido en forma de heces acuosas en muy poco tiempo, lo que resulta en deshidratación severa y posiblemente la muerte. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha desarrollado la terapia de rehidratación oral, que consiste principalmente en NaCl y glucosa. El transporte de glucosa y Na^+ a través del epitelio intestinal fuerza (a través de la ósmosis) el movimiento del agua desde el lumen del intestino hacia las células intestinales, lo que provoca la rehidratación. La glucosa sola, o el NaCl solo, no serían efectivos.

LAS CÉLULAS TRANSPORTAN CIERTAS MACROMOLÉCULAS A TRAVÉS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR ENDOCITOSIS Y EXOCITOSIS

El proceso por el cual las células captan moléculas grandes se llama **endocitosis**. Algunas de estas moléculas, cuando se hidrolizan en la célula, **producen nutrientes** (p. ej., polisacáridos, proteínas y polinucleótidos). La endocitosis también proporciona un mecanismo para **regular** el contenido de ciertos componentes de la membrana; los receptores de hormonas son un buen ejemplo. La endocitosis se puede usar para aprender más sobre cómo funcionan las células.

El DNA de un tipo de célula se puede usar para transfectar una célula diferente y alterar la función o el fenotipo de esta última. A menudo se emplea un gen específico en estos experimentos, lo cual proporciona una forma única de estudiar y analizar la regulación de ese gen. La **transfección del DNA** depende de la endocitosis, que es responsable de la entrada de DNA en la célula. Tales experimentos comúnmente usan fosfato de calcio, ya que el Ca^{2+} estimula la endocitosis y precipita el DNA, lo que hace que este sea un mejor objeto para la endocitosis (véase el capítulo 39). Las células también **liberan macromoléculas** por **exocitosis**. Ambas, la endocitosis y la exocitosis, involucran la formación de vesículas con o desde la membrana plasmática.

La endocitosis implica la ingestión de partes de la membrana plasmática

Casi todas las células eucariotas reciclan continuamente parte de sus membranas plasmáticas. Las vesículas endocitósicas se generan cuando segmentos de la membrana plasmática se invaginan, encerrando un pequeño volumen de fluido extracelular y su contenido. Con posterioridad la vesícula se desprende, cuando la fusión de las membranas plasmáticas sella el cuello de la vesícula en el sitio original de la invaginación (figura 40-20). La membrana lipídica bicapa, o la vesícula así generada, se fusiona después con otras estructuras de membrana y así logra el transporte de su contenido a otros compartimientos celulares, o incluso de regreso al exterior de la célula. La mayor parte de las vesículas endocitósicas se fusionan con los lisosomas primarios para formar lisosomas secundarios, que contienen enzimas hidrolíticas y son, por tanto, organelos

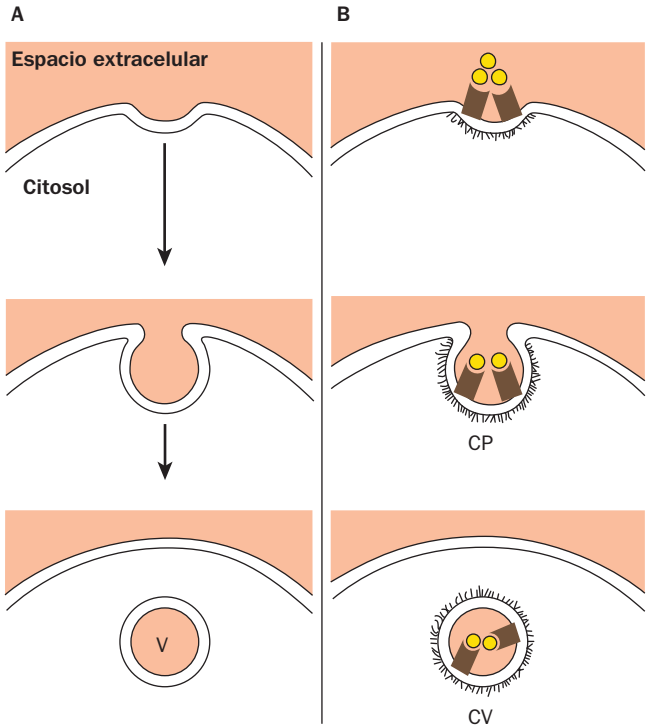


FIGURA 40-20 Dos tipos de pinocitosis. Una endocitosis (V) se forma como resultado de la invaginación de una parte de la membrana plasmática. La pinocitosis en fase fluida (**A**) es aleatoria y no dirigida. La absorbente (endocitosis mediada por receptor) (**B**) es selectiva, y aparece en fosas recubiertas (CP) revestidas con la proteína clatrina (el material difuso). La focalización es proporcionada por receptores específicos para una variedad de moléculas (símbolos marrones). Esto da como resultado la formación de una vesícula internalizada revestida con clatrina (CV).

especializados para la eliminación intracelular. Los contenidos macromoleculares se digieren para producir aminoácidos, azúcares simples o nucleótidos, que se transportan fuera de las vesículas para ser (re) utilizados por la celda. La endocitosis requiere 1) energía, generalmente de la hidrólisis del ATP; 2) Ca^{2+}; y 3) elementos contráctiles en la célula (probablemente el sistema de microfilamentos) (ver capítulo 50).

Hay dos **tipos generales de endocitosis**. La **fagocitosis** ocurre sólo en células especializadas como macrófagos y granulocitos. La fagocitosis implica la ingestión de partículas grandes como virus, bacterias, células o restos celulares. Los macrófagos son extremadamente activos en este aspecto y pueden ingerir 25% de su volumen por hora. Al hacerlo, un macrófago puede internalizar 3% de su membrana plasmática cada minuto, o la membrana completa cada 30 minutos.

La **pinocitosis** ("beber células") es una propiedad de todas las células y conduce a la absorción celular de los fluidos y sus contenidos. Existen dos tipos. La pinocitosis en fase fluida es un proceso no selectivo, en el cual la captación de un soluto por la formación de pequeñas vesículas es simplemente proporcional a su concentración en el fluido extracelular circundante. La formación de estas vesículas es un proceso extremadamente activo. Los fibroblastos,

por ejemplo, internan su membrana plasmática a aproximadamente un tercio de la velocidad de los macrófagos. Este proceso ocurre con más rapidez que la formación de membranas. El área superficial y el volumen de una célula no cambian demasiado, por lo que las membranas se deben sustituir por exocitosis, o reciclarse tan rápido como se eliminan por la endocitosis.

El otro tipo de pinocitosis, **pinocitosis absorbente** o **endocitosis mediada por receptores**, es principalmente responsable de la captación de macromoléculas específicas para las que existen sitios de unión en la membrana plasmática. Estos receptores de alta afinidad permiten la concentración selectiva de ligandos del medio, minimizan la captación de moléculas sólidas no unidas, fluidas o solubles, y aumentan notablemente la velocidad a la que moléculas específicas entran en la célula. Las vesículas formadas durante la pinocitosis absortiva provienen de invaginaciones (fosas) recubiertas en el lado citoplasmático con un material filamentoso, y se denominan adecuadamente **fosas recubiertas**. En muchos sistemas el material filamentoso es la proteína clatrina. Tiene una estructura de tres ramas (llamada triskelion), con cada miembro formado por una cadena ligera y una pesada de clatrina. La polimerización de la clatrina en una vesícula está dirigida por **partículas de ensamblaje**, compuestas de cuatro **proteínas adaptadoras**. Estas interactúan con ciertas secuencias de aminoácidos en los receptores que se convierten en cargamento, asegurando la selectividad de la absorción. El lípido **fosfatidilinositol 4,5-bifosfato** (PIP2) también desempeña un papel importante en el ensamblaje de vesículas (véase el capítulo 21). Además, la proteína **dinamina**, que tanto enlaza como hidroliza a la guanosina trifosfato GTP, es necesaria para la separación de las vesículas recubiertas de clatrina de la superficie celular. Los pozos recubiertos pueden constituir tanto como 2% de la superficie de algunas células. Otros aspectos de las vesículas se discuten en el capítulo 49.

Como ejemplo, la molécula de **lipoproteína de baja densidad** (**LDL**) y su receptor (véase el capítulo 25) se internan mediante fosas recubiertas que contienen el receptor de LDL. Las vesículas endocitósicas que contienen el complejo receptor de LDL unido a LDL se fusionan a los lisosomas en la célula. El receptor se libera y se recicla de nuevo la membrana de la superficie celular, pero la apoproteína del LDL se degrada, y los ésteres del colesterol se metabolizan. La síntesis del receptor de LDL está regulada por las consecuencias secundarias o terciarias de la pinocitosis; por ejemplo, por productos metabólicos como el colesterol, liberado durante la degradación del LDL. Los trastornos del receptor de LDL y de su internación son importantes desde el punto de vista médico, y se analizan en los capítulos 25 y 26.

La pinocitosis absorbente de **glucoproteínas extracelulares** requiere que las glucoproteínas porten señales específicas de reconocimiento de carbohidratos. Estas señales están unidas por moléculas de receptores de membrana, que juegan un papel análogo al del receptor de LDL. Un **receptor galactosilo** en la superficie de los hepatocitos es instrumental en la pinocitosis absortiva de las asialoglucoproteínas de la circulación (véase el capítulo 46). Las **hidrolasas ácidas** asimiladas por la pinocitosis de absorción en los fibroblastos se reconocen por sus restos de manosa 6-fosfato. Resulta interesante que esos restos también parecen desempeñar un papel importante en la orientación intracelular de las hidrolasas ácidas a los lisosomas de las células en las que se sintetizan (véase el capítulo 46).

Existe un lado problemático de la endocitosis mediada por receptores en que los **virus** que causan enfermedades como la hepatitis (que afectan a las células hepáticas), la poliomielitis (que afecta a las neuronas motoras), y el SIDA (que afectan a las células T), inician sus ciclos infecciosos ingresando a las células a través de este mecanismo. La **toxicidad del hierro** también comienza con una absorción excesiva debido a la endocitosis.

La exocitosis libera determinadas macromoléculas de las células

La mayoría de las células liberan macromoléculas al exterior por **exocitosis**. Este proceso también está involucrado en la remodelación de la membrana, cuando los componentes sintetizados en el RE y el aparato de Golgi se transportan en vesículas que se fusionan con la membrana plasmática. La señal para esta "exocitosis clásica" (ver a continuación) es a menudo una hormona que, cuando se une a un receptor de la superficie celular, induce un cambio local y transitorio en la concentración de Ca^{2+}. El Ca^{2+} desencadena la exocitosis. La figura 40-21 proporciona una comparación de los mecanismos de exocitosis y endocitosis.

Las moléculas liberadas por esta forma de exocitosis tienen al menos tres destinos: 1) son proteínas de membrana y permanecen asociadas a la superficie celular; 2) pueden formar parte de la matriz extracelular, por ejemplo, colágeno y glucosaminoglicanos; 3) pueden ingresar fluido extracelular y enviar señales a otras células. La insulina, la hormona paratiroidea, y las catecolaminas, son todas empacadas en gránulos y procesadas dentro de las células, para ser liberadas con la estimulación adecuada.

VARIAS SEÑALES SE PUEDEN TRANSMITIR A TRAVÉS DE LAS MEMBRANAS

Las señales bioquímicas específicas, como los neurotransmisores, las hormonas y las inmunoglobulinas, se unen a las proteínas integrales del receptor transmembrana a través de sus dominios extracelulares expuestos, transmitiendo de ese modo información a través de las membranas al citoplasma. Este proceso, denominado

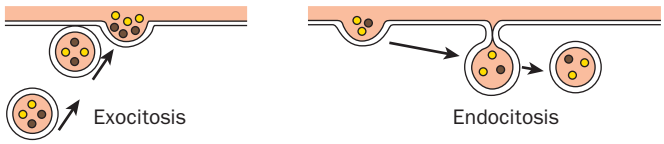


FIGURA 40-21 Una comparación de los mecanismos de endocitosis y exocitosis. La exocitosis implica el contacto de dos monocapas de la superficie interna (lado citoplásmico), mientras que la endocitosis es el resultado del contacto de dos monocapas de la superficie externa.

señalización transmembrana o **transducción de señal**, implica la generación de un número de moléculas de señalización segundas mensajeras, incluidos nucleótidos cíclicos, calcio, fosfoinosítidos y diacilglicerol (véase el capítulo 42). Muchos de los pasos involucran la fosforilación de receptores y de proteínas corriente abajo.

LAS UNIONES GAP PERMITEN EL FLUJO DIRECTO DE MOLÉCULAS DE UNA CÉLULA A OTRA

Las uniones gap son estructuras que permiten la transferencia directa de moléculas pequeñas (hasta ~ 1200 Da) de una célula a su vecina. Las uniones gap están compuestas por una familia de proteínas, llamadas **conexinas**, que forman una estructura bihexagonal con 12 de tales proteínas. Seis conexinas forman un hemicanal conexina, y se unen a una estructura similar en una célula vecina para formar un **canal-conexona** abarcador de membrana (figura 40-22); una unión gap contiene varias conexonas. Diferentes conexinas se encuentran en tejidos distintos. Se ha encontrado que las mutaciones en los genes que codifican las conexinas están asociadas con una serie de desórdenes, que incluyen anomalías cardiovasculares, un tipo de sordera, y la forma X-ligada de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (un desorden neurológico desmielinizante).

LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES (EXOSOMAS) REPRESENTAN UN NOVEDOSO Y ANTERIORMENTE MENOSPRECIADO MECANISMO DE COMUNICACIÓN CELULAR

En la última década se ha identificado y caracterizado una clase de vesículas secretadas pequeñas y heterogéneas, denominadas **vesículas extracelulares**. Estas se han implicado como un nuevo e importante mediador de la comunicación célula-célula, que probablemente contribuya de manera importante a la fisiología normal y patológica. Estas vesículas, encerradas por una bicapa lipídica, son de un tamaño algo heterogéneo (30-2 000 nm de diámetro) y se generan por al menos dos mecanismos distintos (figura 40-23): las **microvesículas** se generan por gemación de la membrana plasmática de una célula fuente, mientras que los **exosomas** se forman a partir del cuerpo multivesicular (MVB), un componente del sistema de tráfico de la membrana endocítica descrito con anterioridad (es decir, véase la figura 40-12). Se segregan protones a partir de la célula fuente tras la fusión del MVB con la membrana plasmática. En ambos casos, las células extracelulares liberadas (exosomas y microvesículas) finalmente se fusionan con su célula objetivo para producir un "cargamento" diferente. Desafortunadamente, dado el

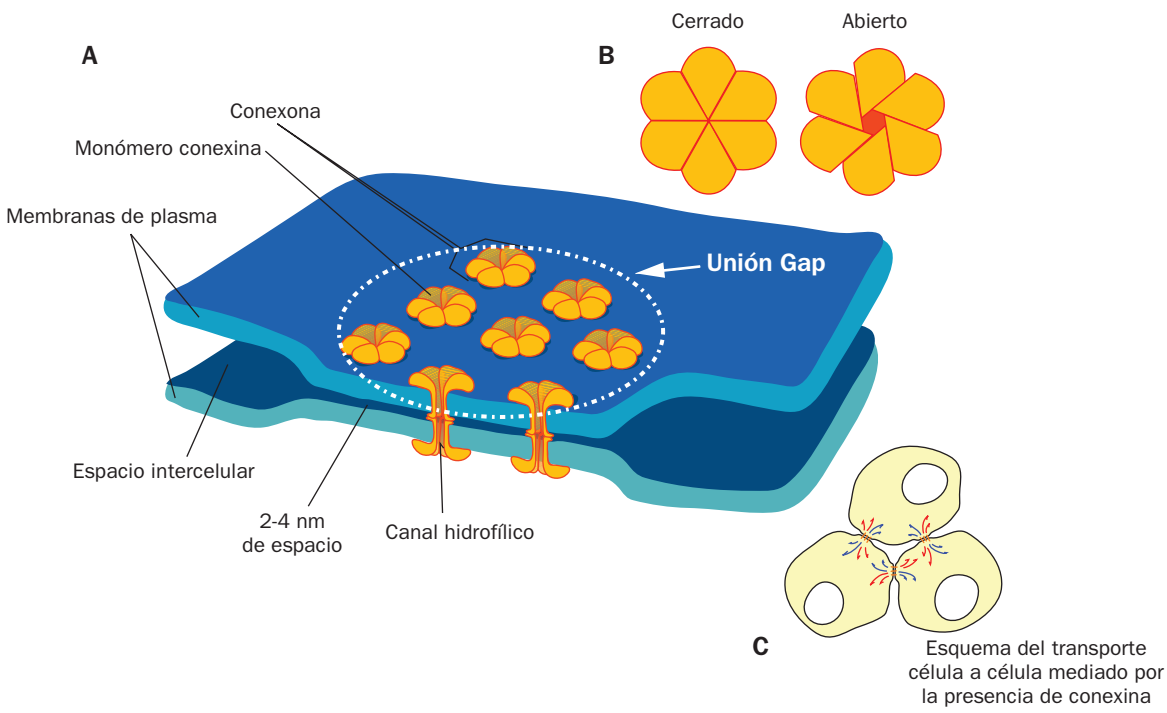


FIGURA 40-22 **Diagrama esquemático de una unión gap.** Se muestran de forma esquemática (**A**) las relaciones entre celdas que contienen conexina; (**B**) canales completos de conexina abiertos y cerrados; y (**C**) el flujo de moléculas entre un grupo de tres células (flechas azules, rojas). Una conexona está hecha de dos hemiconexonas. Cada una de ellas está hecha de seis moléculas de conexina. Los solutos pequeños son capaces de difundirse a través del canal central cuando están abiertos, proporcionando así un mecanismo directo de comunicación célula-célula. Téngase en cuenta que las conexinas conectan celdas que están a 2-4 nm entre sí. Fuente de la imagen: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b7/Gap_cell_junction-en.svg.

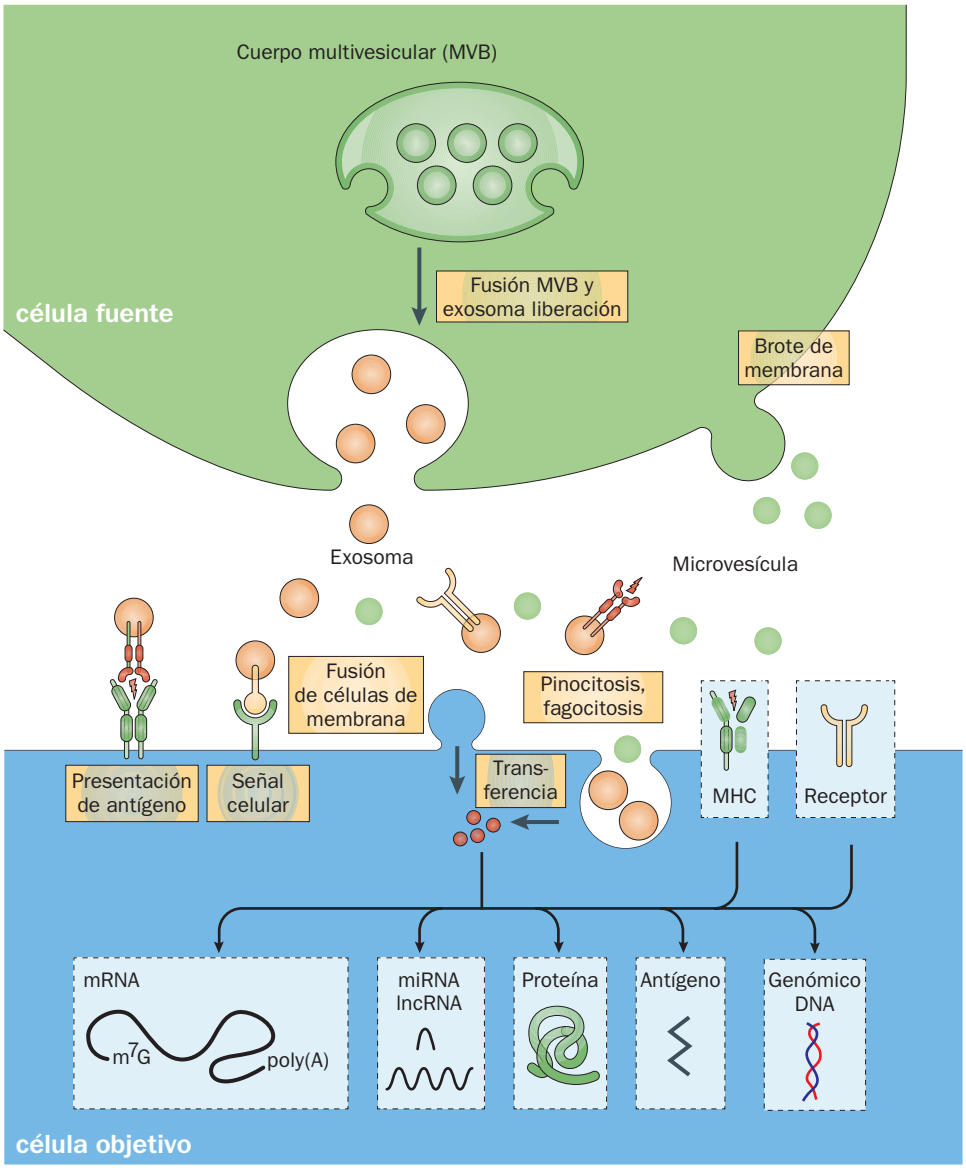


FIGURA 40-23 **Comunicación célula-célula a través de vesículas extracelulares.** Se muestran los mecanismos propuestos para la formación y producción de exosomas y microvesículas a través de la exocitosis (exosoma) y la gemación de membrana (microvesícula) de una célula fuente. Las vesículas producidas en el cuerpo multivesicular (MVB) pueden sufrir exocitosis después de la fusión con la membrana plasmática como se muestra, o brotar en el espacio extracelular. Todos estos procesos implican la colección de proteínas, lípidos y moléculas de señalización previamente implicadas en la exocitosis y gemación (no se muestra). Una vez que se liberan de la célula fuente, los exosomas y/o microvesículas resultantes localizan su célula objetivo, y siguiendo los tipos de interacciones vesícula-célula objetivo que se muestran, liberan su contenido (ver flechas negras dentro de la célula objetivo). Se ha demostrado que diferentes vesículas contienen RNA (RNAm, miRNA, RNAnc, véase el capítulo 36) y DNA, proteínas y lípidos bioactivos específicos, antígenos, y pequeñas moléculas biológicamente activas. Es importante destacar que las vesículas extracelulares han demostrado tener efectos biológicos tanto positivos como negativos sobre las células objetivo, lo mismo en estados normales como patológicos.

reciente descubrimiento de las vesículas extracelulares, los nombres y términos exactos utilizados para describir estas vesículas, sus cargamentos, y las células fuente y objetivo relevantes, varían en la literatura biomédica. Además, los términos "microvesícula" y "exosoma" a menudo se engloban como "exosomas".

El contenido de las vesículas varía de célula fuente a célula fuente, e incluso se ha reportado que es diferente en la misma célula fuente cultivada en condiciones diversas. Las cargas vesiculares pueden incluir una variedad de proteínas citoplasmáticas y nucleares, proteínas unidas a la membrana que van de canales a receptores, moléculas del complejo de histocompatibilidad principal (MHC), proteínas que interactúan con lípidos, DNA, RNAm, y RNAnc grandes y pequeños, así como proteínas y moléculas bioactivas pequeñas (figura 40-23). Dada la rica y amplia diversidad de contenidos de la vesícula/exosoma, no es sorprendente que tales estructuras hayan estado implicadas en una amplia gama de enfer-

medades biológicas. Además, dado su contenido de proteína de membrana y el hecho de que las vesículas extracelulares parecen apuntar a células receptoras específicas, el valor potencial de los exosomas como sistemas de administración terapéutica está recibiendo interés y atención significativos en las industrias farmacéuticas y biotecnológicas. El trabajo futuro determinará si esta nueva e interesante área de investigación biomédica en las vesículas extracelulares cumplirá tal promesa.

LAS MUTACIONES QUE AFECTAN LAS PROTEÍNAS DE MEMBRANA CAUSAN ENFERMEDADES

En vista del hecho de que las membranas están ubicadas en organelos, e involucradas en tantos procesos, no es sorprendente que las mutaciones que afectan a sus componentes proteicos den lugar a muchas enfermedades o trastornos. Mientras que algunas mutaciones afectan directamente la función de las proteínas de membrana, la mayoría causa un plegamiento incorrecto de la proteína, que deteriora el tráfico de la membrana en cualquiera de sus diversos pasos, desde su sitio de síntesis en el ER hasta la membrana plasmática u otros sitios/organelos intracelulares (ver capítulo 49). Los ejemplos de enfermedades o trastornos causados por anomalías en las proteínas de membrana se enumeran en el cuadro 40-7. Estos reflejan principalmente mutaciones en las proteínas de la membrana plasmática, que afectan la función lisosómica (enfermedad de células I).

Las proteínas en las membranas plasmáticas se pueden clasificar como receptoras, transportadoras, canales iónicos, enzimas y componentes estructurales. Los miembros de todas estas clases suelen estar glucosilados, por lo que las mutaciones que afectan a este proceso pueden alterar su función (ver capítulo 46). Las mutaciones en los receptores pueden causar defectos en la señalización transmembrana, una ocurrencia común en el cáncer (ver capítulo 56). Muchos trastornos de enfermedades genéticas se han atribuido a mutaciones que afectan a diversas proteínas implicadas en el transporte de aminoácidos, azúcares, lípidos, uratos, aniones, cationes, agua y vitaminas a través de la membrana plasmática.

Las mutaciones en los genes que codifican proteínas en otros compartimientos unidos a la membrana también pueden tener consecuencias perjudiciales. Por ejemplo, las mutaciones en los genes que codifican proteínas mitocondriales implicadas en la fosforilación oxidativa pueden causar problemas neurológicos y de otro tipo (p. ej., **neuropatía óptica hereditaria de Leber [LHON]**), una condición sobre la que se ha reportado algún éxito con la terapia génica).

Las proteínas de membrana también se pueden afectar por condiciones distintas a las mutaciones. La formación de autoanticuerpos contra el receptor de la acetilcolina en el músculo esquelético causa miastenia gravis. La isquemia puede afectar rápidamente la integridad de varios canales iónicos en las membranas. La sobreexpresión de la P-glucoproteína (MDR-1), una bomba de fármaco localizada en la membrana plasmática, produce resistencia a múltiples fármacos (MDR) en las células cancerosas. Las anormalidades en constituyentes de la membrana diferentes a las proteínas también pueden ser dañinas. Con respecto a los lípidos, el exceso de colesterol (p. ej., en la hipercolesterolemia familiar), del lisofosfolípido (p. ej., después de las mordeduras de ciertas serpientes, cuyo veneno contiene fosfolipasas), o de los glucoesfingolípidos (p. ej., en una esfingolipidosis), pueden afectar la estructura de la membrana y por ende su función.

CUADRO 40-7 Algunas enfermedades o estados patológicos que resultan de anomalías de la membrana, o se atribuyen a ellas[a]

Enfermedad	Anomalía
Acondroplasia (OMIM 100800)	Mutaciones en el gen que codifica el receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos
Hipercolesterolemia familiar (OMIM 143890)	Mutaciones en el gen que codifica el receptor LDL
Fibrosis quística (OMIM 219700)	Mutaciones en el gen que codifica la proteína CFTR, un transportador de Cl^-
Síndrome de QT largo congénito (OMIM 192500)	Mutaciones en genes que codifican canales iónicos en el corazón
Enfermedad de Wilson (OMIM 277900)	Mutaciones en el gen que codifica una ATPasa dependiente del cobre
Enfermedad de células I (OMIM 252500)	Mutaciones en el gen que codifica GlcNAc fosfotransferasa, resultando en la ausencia de la señal de Man 6-P para la localización lisosomal de ciertas hidrolasas
Esferocitosis hereditaria (OMIM 182900)	Mutaciones en los genes que codifican la espectrina u otras proteínas estructurales en la membrana de la célula roja
Metástasis de células cancerígenas	Se piensa que son importantes las anomalías en los oligosacáridos de glucoproteínas de membrana y glucolípidos
Hemoglobinuria nocturna paroxística (OMIM 311770)	La mutación resulta en una deficiencia del anclaje de GPI (ver capítulo 46) a ciertas proteínas de la membrana de células rojas

Abreviaturas: CFTR, proteína reguladora transmembrana de la fibrosis quística; GPI, glucosilfosfatidilinositol; LDL, lipoproteína de baja densidad.
[a] Los trastornos enumerados se discuten con más detalle en otros capítulos. El cuadro enumera ejemplos de mutaciones que afectan a dos receptores, un transportador, varios canales iónicos (es decir, síndrome congénito de QT largo), dos enzimas y una proteína estructural. También se presentan ejemplos de glucosilación alterada o defectuosa de glucoproteínas. La mayoría de las condiciones enumeradas involucran la membrana plasmática.

La fibrosis quística se debe a mutaciones en el gen que codifica el CFTR, un transportador de cloruros

La **fibrosis quística (CF)** es un trastorno genético recesivo que prevalece entre los blancos en América del Norte y en ciertas partes del norte de Europa. La CF se caracteriza por infecciones bacterianas crónicas de las vías respiratorias y los senos paranasales, mala digestión de las grasas debido a insuficiencia pancreática exocrina, infertilidad en los hombres debido a un desarrollo anormal de los conductos deferentes, y niveles elevados de cloruro en el sudor

(>60 mmol/L). Ahora se sabe que las mutaciones en un gen que codifica una proteína llamada **proteína reguladora transmembrana de la fibrosis quística (CFTR)** son responsables de la CF. La CFTR es un transportador de Cl^- regulado por el AMP cíclico. Las principales características clínicas de la CF y más información sobre el gen responsable de la CF y sobre la CFTR se presentan en el caso 5, capítulo 57.

RESUMEN

- Las membranas son estructuras dinámicas complejas compuestas de lípidos, proteínas y moléculas que contienen carbohidratos.
- La estructura básica de todas las membranas es la bicapa lipídica. Esta bicapa está formada por dos láminas de fosfolípidos, en las que los grupos de cabeza polar hidrófilos se alejan entre sí, y se exponen al entorno acuoso en las superficies interior y exterior de la membrana. Las colas no polares hidrofóbicas de estas moléculas están orientadas una hacia la otra, en la dirección del centro de la membrana.
- Las membranas son estructuras muy dinámicas. Los lípidos y ciertas proteínas muestran una modificación lateral rápida. El flip-flop es muy lento para los lípidos, y casi inexistente para las proteínas.
- El modelo del mosaico fluido constituye una base útil para pensar sobre la estructura y la función de la membrana.
- Las proteínas de membrana se clasifican como integrales si están firmemente integradas en la bicapa, y como periféricas si están unidas a la superficie externa o interna de la membrana.
- Las aproximadamente 20 membranas en una célula de mamífero tienen diferentes composiciones y funciones, y definen los compartimientos esenciales –o entornos especializados– dentro de las células con funciones específicas.
- Ciertas moléculas hidrofóbicas se difunden libremente a través de las membranas, pero el movimiento de otras está restringido debido a su tamaño y/o carga.
- Se emplean diversos mecanismos pasivos y activos (generalmente dependientes del ATP) para mantener gradientes en muchas moléculas distintas, a través de membranas diferentes.
- Ciertos solutos, por ejemplo, la glucosa, ingresan a las células mediante una digestión facilitada a lo largo de un gradiente descendente de alta a baja concentración, usando proteínas portadoras específicas (transportadores).
- Las principales bombas impulsadas por ATP se clasifican como P (fosforilada), F (factores de energía), V (vacuolar) y transportadores ABC.
- Los canales iónicos dependientes de ligandos o de voltaje se emplean a menudo para mover moléculas cargadas (Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc.) a través de las membranas hacia abajo de sus gradientes electroquímicos.
- Las moléculas grandes pueden entrar o salir de las células a través de mecanismos tales como la endocitosis o la exocitosis. Estos procesos a menudo requieren la unión de la molécula a un receptor, que proporciona especificidad al proceso.
- Las vesículas extracelulares, denominadas exosomas, también permiten el movimiento directo de macromoléculas de célula a célula a través de pequeñas vesículas. Los cargamentos útiles del exosoma pueden incluir lípidos específicos, proteínas (receptores, canales, proteínas de señalización), DNA, RNA, y pequeñas moléculas bioactivas.
- Las mutaciones que afectan la estructura de las proteínas de la membrana pueden causar enfermedades.

REFERENCIAS

Boulanger CM, Loyer X, Rautou PE, Amabile N: Extracellular vesicles in coronary artery disease. Nat Rev Cardiol 2017;14(5):259-272.

Doherty GJ, McMahon HT: Mechanisms of endocytosis. Annu Rev Biochem 2009;78:857-902.

Fujimoto T, Parmryd I: Interleaflet coupling, pinning, and leaflet asymmetry-major players in plasma membrane nanodomain formation. Front Cell Dev Biol 2017;4:155.

Longo N: Inherited defects of membrane transport. In *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. Fauci AS, et al (editors). McGraw-Hill, 2008.

Mittelbrunn M, Sánchez-Madrid F: Intercellular communication: diverse structures for exchange of genetic information. Nat Rev Mol Cell Biol 2012:13:328-335.

Nicolson GL: The Fluid-Mosaic Model of Membrane Structure: still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years. Biochim Biophys Acta 2014;1838:1451-1466.

Raposo G, Stoorvogel W: Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. J Cell Biol 2013;200:373-383.

Singer SJ: Some early history of membrane molecular biology. Annu Rev Physiol 2004;66:1-27.

Spielberg DR, Clancy JP: Cystic fibrosis and its management through established and emerging therapies. Annu Rev Genomics Hum Genet 2016;17:155-175.

Stone MB, Shelby SA, Veatch SL: Super-resolution microscopy: shedding light on the cellular plasma membrane. Chem Rev 2017;-17(11):7457-7477.

Vance DE, Vance J (editors): *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 5th ed. Elsevier, 2008.

Voelker DR: Genetic and biochemical analysis of non-vesicular lipid traffic. Annu Rev Biochem 2009;78:827-856.

CAPÍTULO

41

La diversidad del sistema endocrino

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar los principios básicos de la acción hormonal endocrina.
- Comprender la amplia diversidad y los mecanismos de acción de las hormonas endocrinas.
- Apreciar los pasos complejos involucrados en la producción, el transporte y el almacenamiento de hormonas.

ACTH	(*Adrenocorticotropic hormone*) Hormona adrenocorticotropa	**IGF-I**	(*Insulin-like growth factor I*) Factor de crecimiento similar a la insulina I
ANF	(*Atrial natriuretic factor*) Factor natriurético auricular	**LH**	(*Luteotropic hormone*) Hormona luteotrópica
cAMP	(*Cyclic adenosine monophosphate*) Monofosfato de adenosina cíclico	**LPH**	(*Lipotropin*) Lipotropina
CBG	(*Corticosteroid-binding globulin*) Globulina fijadora de corticosteroides	**MIT**	(*Monoiodotyrosine*) Monoyodotirosina
CG	(*Chorionic gonadotropin*) Gonadotropina coriónica	**MSH**	(*Melanocyte-stimulating hormone*) Hormona estimulante de melanocitos
cGMP	(*Cyclic guanosine monophosphate*) Monofosfato de guanosina cíclico	**OHSD**	(*Hydroxysteroid dehydrogenase*) Hidroxiesteroide deshidrogenasa
CLIP	(*Corticotropin-like intermediate lobe peptide)* Péptido del lóbulo intermedio tipo corticotropina	**PNMT**	(*Phenylethanolamine-N-methyltransferase*) Feniletanolamina-N-metiltransferasa
DBH	(*Dopamine β-hydroxylase*) Dopamina β-hidroxilasa	**POMC**	(*Pro-opiomelanocortin*) Proopiomelanocortina
DHEA	(*Dehydroepiandrosterone*) Dehidroepiandrosterona	**PRL**	(*Prolactin*) Prolactina
DHT	(*Dihydrotestosterone*) Dihidrotestosterona	**SHBG**	(*Sex hormone–binding globulin*) Globulina fijadora de hormonas sexuales
DIT	(*Diiodotyrosine*) Diyodotirosina	**StAR**	(*Steroidogenic acute regulatory (protein)*) Proteína reguladora aguda esteroidogénica
DOC	(*Deoxycorticosterone*) Deoxicorticosterona	**TBG**	(*Thyroxine-binding globulin*) Globulina fijadora de tiroxina
EGF	(*Epidermal growth factor*) Factor de crecimiento epidérmico	**TEBG**	(*Testosterone-estrogen-binding globulin*) Globulina fijadora de estrógenos y testosterona
FSH	(*Follicle-stimulating hormone*) Hormona estimulante del folículo	**TRH**	(*Thyrotropin-releasing hormone*) Hormona liberadora de tirotropina
GH	(*Growth hormone*) Hormona de crecimiento	**TSH**	(*Thyrotropin-stimulating hormone*) Hormona estimulante de tirotropina

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La supervivencia de los organismos multicelulares depende de su capacidad para adaptarse a un entorno en constante cambio. Los mecanismos de comunicación intercelular son requisitos necesarios para esta adaptación. El sistema nervioso y el sistema endocrino proporcionan esta comunicación intercelular, de todo el organismo. Originalmente, se consideraba que el sistema nervioso proporcionaba un sistema de comunicación fijo, mientras que el sistema endocrino suministraba hormonas, que son mensajes móviles. De hecho, hay una notable convergencia de estos sistemas reguladores. Por ejemplo, la regulación neuronal del sistema endocrino es importante en la producción y secreción de algunas hormonas; muchos neurotransmisores se parecen a las hormonas en su síntesis, transporte y mecanismo de acción y muchas hormonas se sintetizan en el sistema nervioso. La palabra "hormona" se deriva de un término griego que significa despertar a la actividad. Como se define clásicamente, una hormona es una sustancia que se sintetiza en un órgano y es transportada por el sistema circulatorio para actuar sobre otro tejido. Sin embargo, esta descripción original es demasiado restrictiva porque las hormonas pueden actuar sobre las células adyacentes (acción paracrina) y sobre la célula en la que se sintetizaron (acción autocrina) sin entrar en la circulación sistémica. Una gama diversa de hormonas, cada una con mecanismos de acción distintivos y propiedades de biosíntesis, almacenamiento, secreción, transporte y metabolismo, han evolucionado para proporcionar respuestas homeostáticas. Esta diversidad bioquímica es el tema de este capítulo.

EL CONCEPTO DE CÉLULAS BLANCO

Hay más de 200 tipos de células diferenciadas en los humanos. Sólo unas pocas producen hormonas, pero prácticamente los 75 trillones de células en los humanos son objetivos de una o más de las más de 50 hormonas conocidas. El concepto de la célula blanco es una forma útil de observar la acción de las hormonas. Se pensó que las hormonas afectaban a un solo tipo de célula, o sólo a unos pocos tipos de células, y que una hormona provocaba una acción bioquímica o fisiológica única. Ahora sabemos que una hormona determinada puede afectar varios tipos de células diferentes; que más de una hormona puede afectar un tipo de célula dado; y que las hormonas pueden ejercer muchos efectos diferentes en una célula o en células distintas. Con el descubrimiento de la superficie celular específica y receptores de hormonas intracelulares, la definición de un objetivo se ha expandido para incluir cualquier célula en la que la hormona (ligando) se una a su receptor, al determinarse una respuesta bioquímica o fisiológica.

Varios factores determinan la respuesta de una célula blanco a una hormona. Esto se puede pensar de dos maneras generales: 1) como factores que afectan la concentración de la hormona en la célula blanco (cuadro 41-1) y 2) como factores que afectan la respuesta actual de la célula blanco a la hormona (cuadro 41-2).

CUADRO 41-1 Determinantes de la concentración de una hormona en la célula blanco

La velocidad de la síntesis y secreción de las hormonas.
La proximidad de la célula blanco a la fuente de la hormona (efecto de dilución).
La afinidad (constante de disociación, K_d) de la hormona con proteínas específicas de transporte de plasma (si existe).
La conversión de formas inactivas o subóptimamente activas de la hormona en la forma completamente activa.
La velocidad de eliminación de la hormona del plasma, por otros tejidos, o por degradación, metabolismo o excreción.

CUADRO 41-2 Determinantes de la respuesta celular de destino

El número, la actividad relativa y el estado de ocupación de los receptores específicos en la membrana plasmática o en el citoplasma o núcleo.
El metabolismo (activación o inactivación) de la hormona en la célula blanco.
La presencia de otros factores dentro de la célula que son necesarios para la respuesta hormonal.
Regulación hacia arriba o hacia abajo del receptor como consecuencia de la interacción con su ligando.
Desensibilización posreceptor de la célula, incluida la regulación a la baja del receptor.

LOS RECEPTORES HORMONALES SON DE IMPORTANCIA CENTRAL

Los receptores discriminan con precisión

Uno de los mayores desafíos que enfrenta el hacer funcionar el sistema de comunicación basado en hormonas se ilustra en la figura 41-1. Las hormonas están presentes a concentraciones muy bajas en el fluido extracelular, generalmente en el rango femto a nanomolar (10^{-15}-10^{-9} mol/L). Esta concentración es mucho más baja que la de muchas moléculas estructuralmente similares (esteroles, aminoácidos, péptidos y proteínas) y otras moléculas que circulan

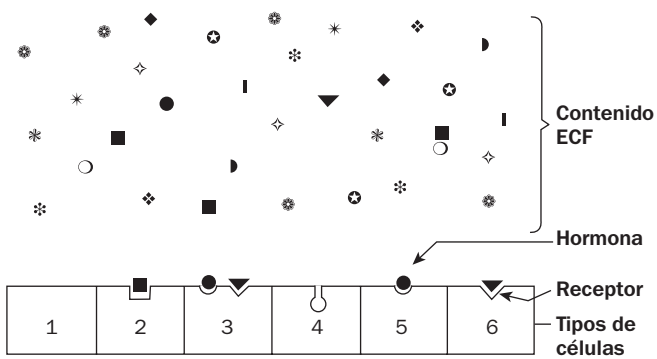


FIGURA 41-1 Especificidad y selectividad de los receptores hormonales. Muchas moléculas diferentes circulan en el líquido extracelular (ECF), pero sólo unos pocos son reconocidos por los receptores de hormonas. Los receptores deben seleccionar estas moléculas entre altas concentraciones de las otras moléculas. Este dibujo simplificado muestra que una célula puede no tener receptores hormonales (tipo celular 1), tener un receptor (tipos celulares 2 + 5 + 6), tener receptores para varias hormonas (tipo celular 3), o tener un receptor pero no tener una hormona en la vecindad (celda tipo 4).

a concentraciones en el rango de micro a milimolar (10^{-6}-10^{-3} mol/L). Las células blanco, por tanto, deben distinguir no sólo entre las diferentes hormonas presentes en pequeñas cantidades, sino también entre una hormona determinada y el exceso de 10^6 a 10^9 veces de otras moléculas similares. Este alto grado de discriminación es proporcionado por moléculas de reconocimiento asociadas con células llamadas receptores. Las hormonas inician sus efectos biológicos al unirse a receptores hormonales específicos y, dado que cualquier sistema de control efectivo también debe proporcionar un medio para detener una respuesta, las acciones inducidas por hormonas generalmente, pero no siempre, terminan cuando el efector se disocia del receptor (véase la figura 38-1; respuesta tipo A).

Una célula blanco se define por su capacidad para unir selectivamente una hormona dada a su receptor afín. Varias características bioquímicas de esta interacción son importantes para que las interacciones hormona-receptor sean fisiológicamente relevantes: 1) la unión debe ser específica, es decir, desplazable por agonista o antagonista; 2) la unión debe ser saturable; y 3) la unión debe ocurrir dentro del rango de concentración de la respuesta biológica esperada.

Ambos dominios de reconocimiento y acoplamiento ocurren en los receptores

Todos los receptores tienen al menos dos dominios funcionales. Un dominio de reconocimiento se une al ligando de la hormona y una segunda región genera una señal que une el reconocimiento de la hormona con alguna función intracelular. Este acoplamiento, o transducción de señales, ocurre de dos maneras generales. Las hormonas polipéptidas y proteicas y las catecolaminas se unen a los receptores ubicados en la membrana plasmática y de ese modo generan una señal que regula varias funciones intracelulares, a menudo al cambiar la actividad de una enzima. Por el contrario, los esteroides lipofílicos, los retinoides y las hormonas tiroideas interactúan con los receptores intracelulares; este complejo ligando-receptor es el que proporciona directamente la señal, generalmente a genes específicos cuya velocidad de transcripción se ve afectada.

Los dominios responsables del reconocimiento de hormonas y la generación de señal se han identificado en los receptores de la proteína polipéptido y de la hormona catecolamina. Al igual que muchos otros factores de transcripción que se unen al DNA, los receptores de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides tienen varios dominios funcionales: un sitio se une a la hormona, otro se une a regiones de DNA específicas, un tercero participa en la interacción con varias proteínas correguladoras que dan como resultado la activación (o represión) de la transcripción génica, y una cuarta región puede especificar la unión a una o más proteínas que influyen en el tráfico intracelular del receptor (véase figura 38-19).

Las funciones duales de unión y acoplamiento definen finalmente un receptor, y es el acoplamiento de la unión hormonal a la transducción de señal, el llamado acoplamiento receptor-efector, el que proporciona el primer paso en la amplificación de la respuesta hormonal. Este doble propósito también distingue el receptor de la célula blanco de las proteínas transportadoras de plasma que se unen a la hormona, pero que no generan una señal (véase cuadro 41-6).

Los receptores son proteínas

Se han definido varias clases de receptores de hormonas peptídicas. Por ejemplo, el receptor de insulina es un heterotetrámero compuesto por dos copias de dos subunidades proteicas diferentes ($\alpha_2\beta_2$), unidas por enlaces disulfuro múltiples en los que la subunidad α extracelular se une a la insulina y la subunidad β transmembrana transduce la señal a través del dominio de proteína cinasa de tirosina localizado en la porción citoplásmica de este polipéptido. Los receptores para el factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) son generalmente similares en estructura al receptor de la insulina. Los receptores de la hormona del crecimiento (GH) y de la prolactina (PRL) también abarcan la membrana plasmática de las células blanco, pero no contienen actividad intrínseca de la proteína cinasa. La unión del ligando a estos receptores, sin embargo, da como resultado la asociación y activación de una vía de señalización de proteína cinasa completamente diferente, la vía Jak-Stat. Los receptores de hormona polipeptídica y catecolamina, que transducen señales al alterar la velocidad de producción de cAMP a través de proteínas G, que son proteínas de unión a nucleótidos de guanosina que se caracterizan por la presencia de siete dominios que abarcan la membrana. La activación de la proteína cinasa y la generación de AMP cíclico (cAMP, ácido 3'5'-adenílico, véase figura 18-5) es una acción corriente abajo de esta clase de receptor (para más detalles, véase el capítulo 42).

Una comparación de varios receptores de esteroides diferentes con receptores de hormona tiroidea reveló una notable conservación de la secuencia de aminoácidos en ciertas regiones, particularmente en los dominios de unión al DNA. Esta observación llevó a la comprensión de que los receptores del tipo esteroide y tiroideo son miembros de una gran superfamilia de receptores nucleares. Muchos miembros relacionados de esta familia actualmente no tienen un ligando conocido y, por lo tanto, se llaman receptores huérfanos. Los receptores nucleares de la superfamilia juegan un papel fundamental en la regulación de la transcripción genética por las hormonas, como se describe en el capítulo 42.

LAS HORMONAS SE PUEDEN CLASIFICAR DE VARIAS FORMAS

Las hormonas se pueden clasificar de acuerdo con la composición química, las propiedades de solubilidad, la ubicación de los receptores y la naturaleza de la señal utilizada para mediar la acción hormonal dentro de la célula. Una clasificación basada en las dos últimas propiedades se ilustra en el cuadro 41-3, y las características generales de cada grupo se ilustran en el cuadro 41-4.

Las hormonas en el grupo I son lipofílicas, después de la secreción se asocian con las proteínas transportadoras o transportador plasmático, un proceso que elude el problema de la solubilidad al tiempo que prolonga la vida media plasmática de la hormona. Los porcentajes relativos de hormona unida y libre están determinados por la cantidad, afinidad de unión y capacidad de unión de la proteína de transporte. La hormona libre, que es la forma biológicamente activa, atraviesa fácilmente la membrana plasmática lipofílica de todas las células y encuentra receptores en el citosol o en el núcleo de las células blanco. El complejo ligando-receptor es el mensajero intracelular en este grupo.

El segundo grupo principal consiste en hormonas solubles en agua que se unen con receptores específicos que abarcan la membrana plasmática de la célula blanco. Las hormonas que se unen a estos receptores superficiales de las células se comunican con los procesos metabólicos intracelulares a través de moléculas intermediarias llamadas segundos mensajeros (la hormona en sí misma es

CUADRO 41-3 Clasificación de las hormonas por su mecanismo de acción

I. *Hormonas que se unen con los receptores intracelulares*
- Andrógenos
- Calcitriol [1,25$(OH)_2$-D_3)]
- Estrógenos
- Glucocorticoides
- Mineralocorticoides
- Progestinas
- Ácido retinoico
- Hormonas tiroideas (T_3 y T_4)

II. *Hormonas que se unen a los receptores de la superficie celular*

A. El segundo mensajero es cAMP
- Catecolaminas α_2-adrenérgicas
- Catecolaminas β-adrenérgicas
- Hormona adrenocorticotropa (ACTH)
- Hormona antidiurética (vasopresina)
- Calcitonina
- Gonadotropina coriónica, humana (CG)
- Hormona liberadora de corticotropina
- Hormona folículo-estimulante (FSH)
- Glucagón
- Lipotropina (LPH)
- Hormona luteinizante (LH)
- Melanocito estimulante de la hormona (MSH)
- Hormona paratiroidea (PTH)
- Somatostatina
- Hormona estimulante de la tiroides (TSH)

B. El segundo mensajero es cGMP
- Factor natriurético atrial
- Óxido nítrico

C. El segundo mensajero es calcio o fosfatidilinositol (o ambos)
- Acetilcolina (muscarínico)
- Catecolaminas α_1-adrenérgicas
- Angiotensina II
- Hormona antidiurética (vasopresina)
- Colecistoquinina
- Gastrina
- Hormona liberadora de gonadotropina
- Oxitocina
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)
- Sustancia P
- Hormona liberadora de tirotropina (TRH)

D. El segundo mensajero es una cascada de cinasa o fosfatasa
- Adiponectina
- Somatomamotropina coriónica
- Factor de crecimiento epidérmico (EGF)
- Eritropoyetina (EPO)
- Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)
- Hormona del crecimiento (GH)
- Insulina
- Factores de crecimiento similares a la insulina I y II
- Leptina
- Factor de crecimiento nervioso (NGF)
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas
- Prolactina

el primer mensajero), que se generan como consecuencia de la interacción ligando-receptor. El concepto del segundo mensajero surgió de una observación de que la adrenalina se une a la membrana plasmática de ciertas células y aumenta el cAMP intracelular. Esto fue seguido por una serie de experimentos en los que se encontró que el cAMP medía los efectos de muchas hormonas. Las hormonas que emplean este mecanismo se muestran en el grupo II.A del cuadro 41-3. El factor natriurético auricular (ANF) usa cGMP como segundo mensajero (grupo II.B). Varias hormonas, muchas de las cuales se pensaba anteriormente que afectaban el cAMP, parecen usar calcio iónico (Ca^{2+}) o metabolitos de fosfoinosítidos complejos (o ambos) como señal de segundo mensajero intracelular. Estos se muestran en el grupo II.C del cuadro. El mensajero intracelular para el grupo II.D es una cascada de proteína cinasa-fosfatasa; varios han sido identificados, y una hormona determinada puede usar más de una cascada de cinasa. Algunas hormonas encajan en más de una categoría y las asignaciones cambian a medida que se descubre nueva información.

CUADRO 41-4 Características generales de las clases de hormonas

	Grupo I	Grupo II
Tipos	Esteroides, yodotironinas, calcitriol, retinoides	Polipéptidos, proteínas, glicoproteínas, catecolaminas
Solubilidad	Lipofílica	Hidrofílica
Proteínas de transporte	Sí	No
Semivida plasmática	Larga (horas a días)	Corta (minutos)
Receptor	Intracelular	Membrana plasmática
Mediador	Receptor – complejo de hormona	cAMP, cGMP, Ca^{2+}, metabolitos de fosfinositoles complejos, cascadas de quinasas

DIVERSIDAD DEL SISTEMA ENDOCRINO

Las hormonas se sintetizan en una variedad de disposiciones celulares

Las hormonas se sintetizan en órganos discretos, diseñados exclusivamente para este propósito específico, como la tiroides (triyodotironina), suprarrenales (glucocorticoides y mineralocorticoides) y la hipófisis (TSH, FSH, LH, GH, PRL, ACTH). Algunos órganos están diseñados para realizar dos funciones distintas, pero estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los ovarios producen ovocitos maduros y las hormonas reproductivas estradiol y progesterona. Los testículos producen espermatozoides maduros y testosterona. Las hormonas también se producen en células especializadas dentro de otros órganos, como el intestino delgado (péptido similar al glucagón), la tiroides (calcitonina) y el riñón (angiotensina II). Finalmente, la síntesis de algunas hormonas requiere células parenquimatosas de más de un órgano, por ejemplo, la piel, el hígado y el riñón son necesarios para la producción de 1,25$(OH)_2$-D_3 (calcitriol). Los ejemplos de esta diversidad en el enfoque de la síntesis de hormonas, cada uno de los cuales ha evolucionado para cumplir un propósito específico, se analizan a continuación.

Las hormonas son químicamente diversas

Las hormonas se sintetizan a partir de una amplia variedad de bloques de construcción química, una gran serie se deriva del coleste-

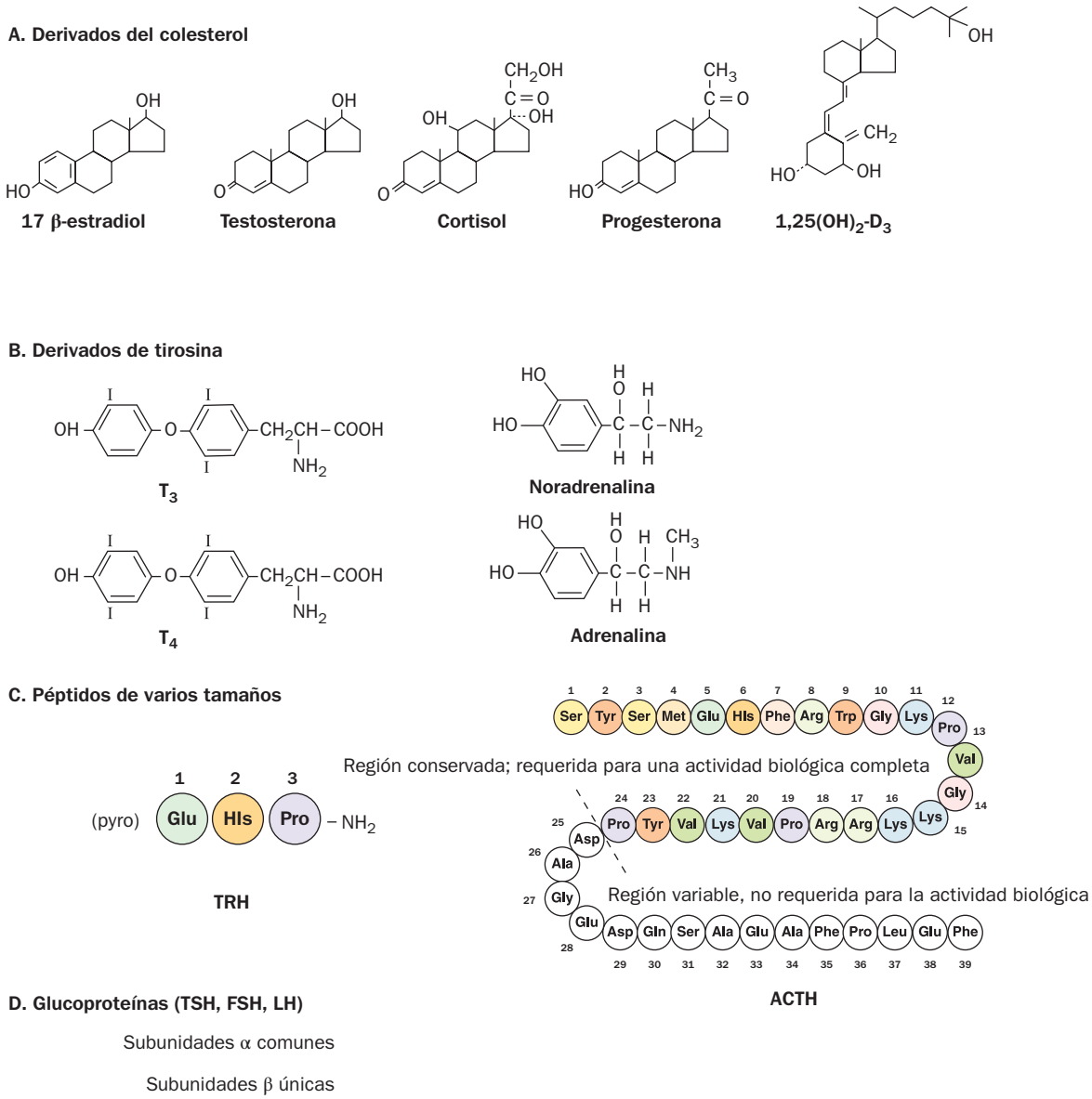


FIGURA 41-2 **Diversidad química de las hormonas.** (A) derivados del colesterol; (B) derivados de tirosina; (C) péptidos de diversos tamaños; nota: el ácido piroglutámico (piro) es una variante ciclada de ácido glutámico en la que los grupos carboxilo y amino libres de la cadena lateral se ciclan para formar una lactama. (D) glucoproteínas (TSH, FSH y LH) con subunidades α comunes y subunidades β únicas.

rol. Estos incluyen los glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos, estrógenos, progestinas y $1,25(OH)_2$-D_3 (figura 41-2). En algunos casos, una hormona esteroide es la molécula precursora de otra hormona. Por ejemplo, la progesterona es una hormona en sí misma, pero también es un precursor en la formación de glucocorticoides, mineralocorticoides, testosterona y estrógenos. La testosterona es un intermediario obligatorio en la biosíntesis de estradiol y en la formación de dihidrotestosterona (DHT). En estos ejemplos, descritos con detalle a continuación, el producto final está determinado por el tipo de célula y el conjunto de enzimas asociadas en las que existe el precursor.

El aminoácido tirosina es el punto de partida en la síntesis, tanto de las catecolaminas como de las hormonas tiroideas tetrayodotironina (tiroxina, T_4) y triyodotironina (T_3) (figura 41-2). T_3 y T_4 son únicas ya que requieren la adición de yodo (como I^-) para la bioactividad. Como el yodo dietético es muy escaso en muchas partes del mundo, se ha desarrollado un intrincado mecanismo para acumular y retener I^-.

Muchas hormonas son polipéptidos o glucoproteínas. Estos varían en tamaño desde la hormona liberadora de tirotropina (TRH), un tripéptido, hasta polipéptidos de cadena sencilla como la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, 39 aminoácidos), la hormona paratiroidea (PTH, 84 aminoácidos) y la hormona del crecimiento (GH; 191 aminoácidos) (figura 41-2). La insulina es un heterodímero de la cadena A-B de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. La hormona foliculoestimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y la gonadotropina coriónica (CG) son hormonas glucoproteicas de la estructura hete-

rodimérica αβ. La cadena α es idéntica en todas estas hormonas y las cadenas β distintas imparten la singularidad de la hormona. Estas hormonas tienen una masa molecular en el rango de 25 a 30 kDa, dependiendo del grado de glucosilación y la longitud de la cadena β.

Las hormonas se sintetizan y modifican para una actividad completa en una variedad de formas

Algunas hormonas se sintetizan en su forma final y se secretan inmediatamente. En esta clase se incluyen las hormonas derivadas del colesterol. Otras, como las catecolaminas, se sintetizan en su forma final y se almacenan en las células productoras, mientras que algunas más, como la insulina, se sintetizan como moléculas precursoras en la célula productora, y luego se procesan y secretan con una señal fisiológica (concentraciones de glucosa en plasma). Finalmente, otras se convierten en formas activas a partir de moléculas precursoras en los tejidos periféricos (T_3 y DHT). Todos estos ejemplos se discuten con más detalle a continuación.

MUCHAS HORMONAS ESTÁN SINTETIZADA A PARTIR DEL COLESTEROL

Esteroidogénesis suprarrenal

Las hormonas esteroides suprarrenales se sintetizan a partir del colesterol, que se deriva principalmente del plasma, pero una pequeña parte se sintetiza *in situ* a partir de acetil-CoA a través de mevalonato y escualeno. Gran parte del colesterol en las glándulas suprarrenales se esterifica y se almacena en gotas de lípidos citoplásmicas. Tras la estimulación de la suprarrenal por la ACTH, se activa una esterasa y el colesterol libre formado se transporta a la mitocondria, donde una enzima de escisión de la cadena lateral del citocromo P450 (P450scc) convierte el colesterol en pregnenolona. La escisión de la cadena lateral implica hidroxilaciones secuenciales, primero en C_{22} y luego en C_{20}, después de escisión de la cadena lateral (eliminación del isocaproaldehído del fragmento de seis carbonos) para proporcionar el esteroide de 21 carbonos (figura 41-3, arriba). Una proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR) dependiente de ACTH es esencial para el transporte de colesterol a P450scc en la membrana mitocondrial interna.

Todas las hormonas esteroides de los mamíferos se forman a partir del colesterol por medio de la pregnenolona a través de una serie de reacciones que se producen en la mitocondria o en el retículo endoplasmático de la célula productora. Las hidroxilasas que requieren oxígeno molecular y NADPH son esenciales, y las deshidrogenasas, una isomerasa y una reacción de liasa también son necesarias para ciertos pasos. Existe especificidad celular en la esteroidogénesis suprarrenal. Por ejemplo, 18-hidroxilasa y 19-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que se requieren para la síntesis de aldosterona se encuentran sólo en las células de la zona glomerulosa (la región externa de la corteza suprarrenal), por lo que la biosíntesis de este mineralocorticoide se limita a esta región. En la figura 41-4 se presenta una representación esquemática de las vías implicadas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales. Las enzimas se muestran en las cajas recangulares, y las modificaciones en cada paso están sombreadas.

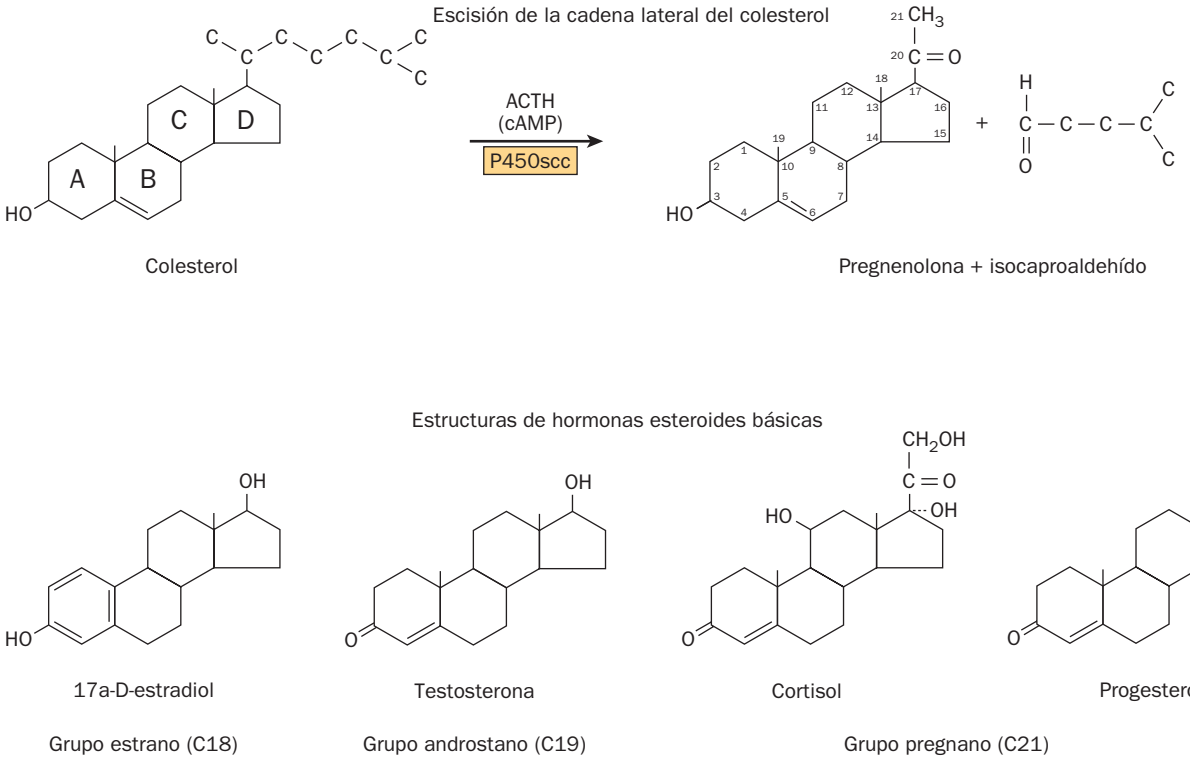


FIGURA 41-3 Escisión de la cadena lateral del colesterol y estructuras básicas de la hormona esteroidea. Los anillos de esterol básicos se identifican con las letras A a D. Los átomos de carbono están numerados del 1 al 21, comenzando con el anillo A (véase la figura 26-3).

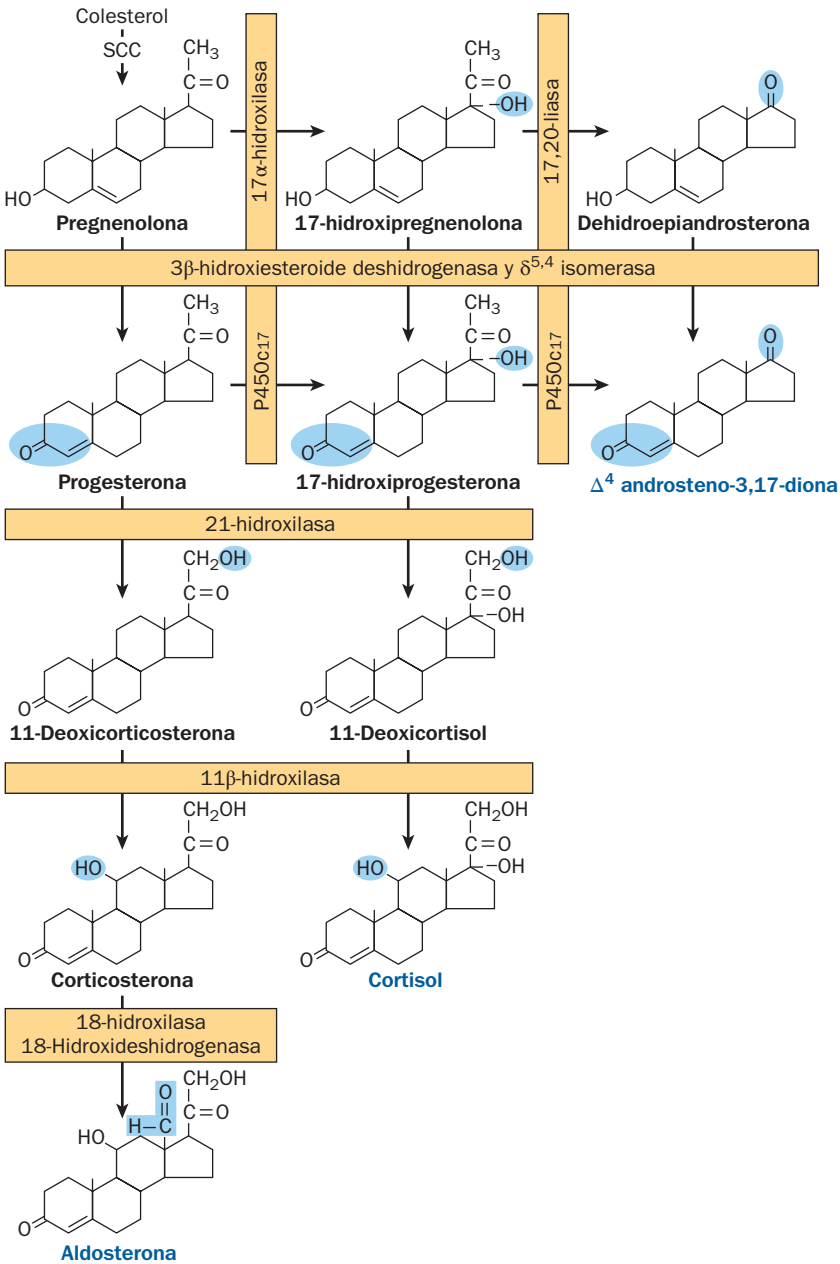


FIGURA 41-4 Vías implicadas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales (mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos). Las enzimas se muestran en los recuadros rectangulares y las modificaciones en cada paso están sombreadas. Tenga en cuenta que las actividades de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa son ambas partes de una enzima, designada P450c17. (Ligeramente modificado y reproducido con permiso de Harding BW: In: Endocrinology, vol. 2. DeGroot LJ (editor). Grune & Stratton, 1979. Copyright © 1979 Elsevier Inc. Reproducido con permiso de Elsevier).

Síntesis de mineralocorticoides

La síntesis de aldosterona sigue la ruta mineralocorticoide y se produce en la zona glomerulosa. La pregnenolona se convierte en progesterona por la acción de dos enzimas del retículo endoplasmático liso: 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD) y $\Delta^{5,4}$-isomerasa. La progesterona se hidroxila en la posición C_{21} para formar 11-deoxicorticosterona (DOC), que es un mineralocorticoide activo (que contiene Na^+). La siguiente hidroxilación, en C_{11}, produce corticosterona, que tiene actividad glucocorticoide y es un mineralocorticoide débil (tiene <5% de la potencia de aldosterona). En algunas especies (p. ej., roedores), es el glucocorticoide más potente. La hidroxilación C_{21} es necesaria tanto para la actividad mineralocorticoide como para la glucocorticoide, pero la mayoría de los esteroides con un grupo hidroxilo C_{17} tienen más acción glucocorticoide y menos mineralocorticoide. En la zona glomerulosa, que no tiene la enzima 17α-hidroxilasa del retículo endoplasmático liso, está presente una 18-hidroxilasa mitocondrial. La 18-hidroxilasa (aldosterona sintasa) actúa sobre la corticosterona para formar 18-hidroxicorticosterona, que se convierte en aldosterona median-

te la conversión del 18-alcohol en un aldehído. Esta distribución única de enzimas y la regulación especial de la zona glomerulosa por K^+ y la angiotensina II han llevado a algunos investigadores a sugerir que, además de que las glándulas suprarrenales son dos glándulas, la corteza suprarrenal es, en realidad, dos órganos separados.

Síntesis de glucocorticoides

La síntesis de cortisol requiere tres hidroxilasas localizadas en las zonas fasciculata y reticular de la corteza suprarrenal que actúan secuencialmente en las posiciones C_{17}, C_{21} y C_{11}. Las primeras dos reacciones son rápidas, mientras que la hidroxilación C_{11} es relativamente lenta. Si la posición C_{11} se hidroxila primero, se impide la acción de la 17α-hidroxilasa y se sigue la ruta mineralocorticoidea (formando corticosterona o aldosterona, dependiendo del tipo de célula). La 17α-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplasmático liso que actúa sobre la progesterona o, más comúnmente, sobre la pregnenolona. La 17α-hidroxiprogesterona se hidroxila en C_{21} para formar 11-deoxicortisol, que luego se hidroxila en C_{11} para formar cortisol, la hormona glucocorticoide natural más potente en los humanos. La 21-hidroxilasa es una enzima suave del retículo endoplasmático, mientras que la 11β-hidroxilasa es una enzima mitocondrial. La esteroidogénesis implica, por tanto, el desplazamiento repetido de sustratos dentro y fuera de las mitocondrias.

Síntesis de andrógenos

El principal precursor de andrógenos producido por la corteza suprarrenal es la dehidroepiandrosterona (DHEA). La mayoría de la 17-hidroxipregnenolona sigue la ruta de los glucocorticoides, pero una pequeña fracción se somete a fisión oxidativa y a la eliminación de la cadena lateral de dos carbonos a través de la acción de la 17,20-liasa. La actividad liasa en realidad es parte de la misma enzima (P450c17) que cataliza la 17α-hidroxilación. Esto es, por tanto, una proteína de doble función. La actividad liasa es importante tanto en las glándulas suprarrenales como en las gónadas y actúa exclusivamente sobre moléculas que contienen 17α-hidroxi. La producción de andrógenos suprarrenales aumenta notablemente si la biosíntesis de glucocorticoides se ve obstaculizada por la falta de una de las hidroxilasas (síndrome adrenogenital). La DHEA en realidad es una prohormona, ya que las acciones de 3β-OHSD y $\Delta^{5,4}$-isomerasa convierten al andrógeno débil DHEA en la androstenediona más potente. Pequeñas cantidades de androstenediona también se forman en la glándula suprarrenal por la acción de la liasa en 17α-hidroxiprogesterona. La reducción de la androstenediona en la posición C_{17} da como resultado la formación de testosterona, el andrógeno suprarrenal más potente. Pequeñas cantidades de testosterona se producen en la glándula suprarrenal por este mecanismo, pero la mayoría de esta conversión ocurre en los testículos.

Esteroidogénesis testicular

Los andrógenos testiculares se sintetizan en el tejido intersticial por las células de Leydig. El precursor inmediato de los esteroides gonadales, como los esteroides suprarrenales, es el colesterol. El paso limitante de la velocidad, como en la suprarrenal, es la administración de colesterol a la membrana interna de las mitocondrias mediante la proteína de transporte StAR. Una vez en la ubicación adecuada, la enzima de escisión de la cadena lateral P450scc actúa sobre el colesterol. La conversión de colesterol a pregnenolona es idéntica en suprarrenales, ovarios y testículos. En los últimos dos tejidos, sin embargo, la reacción se promueve por LH en lugar de ACTH.

La conversión de pregnenolona en testosterona requiere la acción de cinco actividades enzimáticas contenidas en tres proteínas: 1) 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD) y $\Delta^{5,4}$-isomerasa; (2) 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa; y 3) 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-OHSD). Esta secuencia, conocida como la ruta de la progesterona (o Δ^4), se muestra en el lado derecho de la figura 41-5. La pregnenolona también se puede convertir en testosterona por la vía de la dehidroepiandrosterona (o Δ^5), que se ilustra en el lado izquierdo de la figura 41-5. La ruta Δ^5 parece ser la más utilizada en los testículos humanos.

Las cinco actividades enzimáticas están localizadas en la fracción microsomal en testículos de rata, y existe una estrecha asociación funcional entre las actividades de 3β-OHSD y $\Delta^{5,4}$-isomerasa y entre las de una 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa. Estos pares de enzimas, ambos contenidos en una sola proteína, se muestran en la secuencia de reacción general en la figura 41-5.

DHT se forma a partir de la testosterona en los tejidos periféricos

La testosterona se metaboliza por dos vías. Una implica la oxidación en la posición 17, y la otra implica la reducción del doble enlace del anillo A y la 3-cetona. El metabolismo por la primera vía ocurre en muchos tejidos, incluido el hígado, y produce 17-cetosteroides que generalmente son inactivos o menos activos que el compuesto original. El metabolismo por la segunda vía, que es menos eficiente, se produce principalmente en el tejido blanco y produce el potente metabolito DHT.

El producto metabólico más importante de la testosterona es la DHT, ya que en muchos tejidos, como próstata, genitales externos y algunas áreas de la piel, esta es la forma activa de la hormona. El contenido plasmático de DHT en el hombre adulto es aproximadamente una décima parte del de la testosterona, y ~400 µg de DHT se producen diariamente, en comparación con alrededor de 5 mg de testosterona. Alrededor de 50 a 100 µg de DHT son secretados por los testículos. El resto se produce periféricamente a partir de la testosterona en una reacción catalizada por la 5α-reductasa dependiente de NADPH (figura 41-6). Por tanto, la testosterona puede considerarse una prohormona, ya que se convierte en un compuesto mucho más potente (DHT) y, dado que la mayor parte de esta conversión ocurre fuera de los testículos, algo de estradiol se forma a partir de la aromatización periférica de la testosterona, particularmente en los hombres.

Esteroidogénesis ovárica

Los estrógenos son una familia de hormonas sintetizadas en una variedad de tejidos. El 17β-estradiol es el principal estrógeno de origen ovárico. En algunas especies, la estrona, sintetizada en numerosos tejidos, es más abundante. En el embarazo, se produce relativamente más estriol, y esto proviene de la placenta. La vía general y la localización subcelular de las enzimas implicadas en los primeros pasos de la síntesis de estradiol son las mismas que las que participan en la biosíntesis de andrógenos. Las características únicas del ovario se ilustran en la figura 41-7.

Los estrógenos se forman mediante la aromatización de los andrógenos en un proceso complejo que implica tres etapas de hidroxilación, cada una de las cuales requiere O_2 y NADPH. Se cree

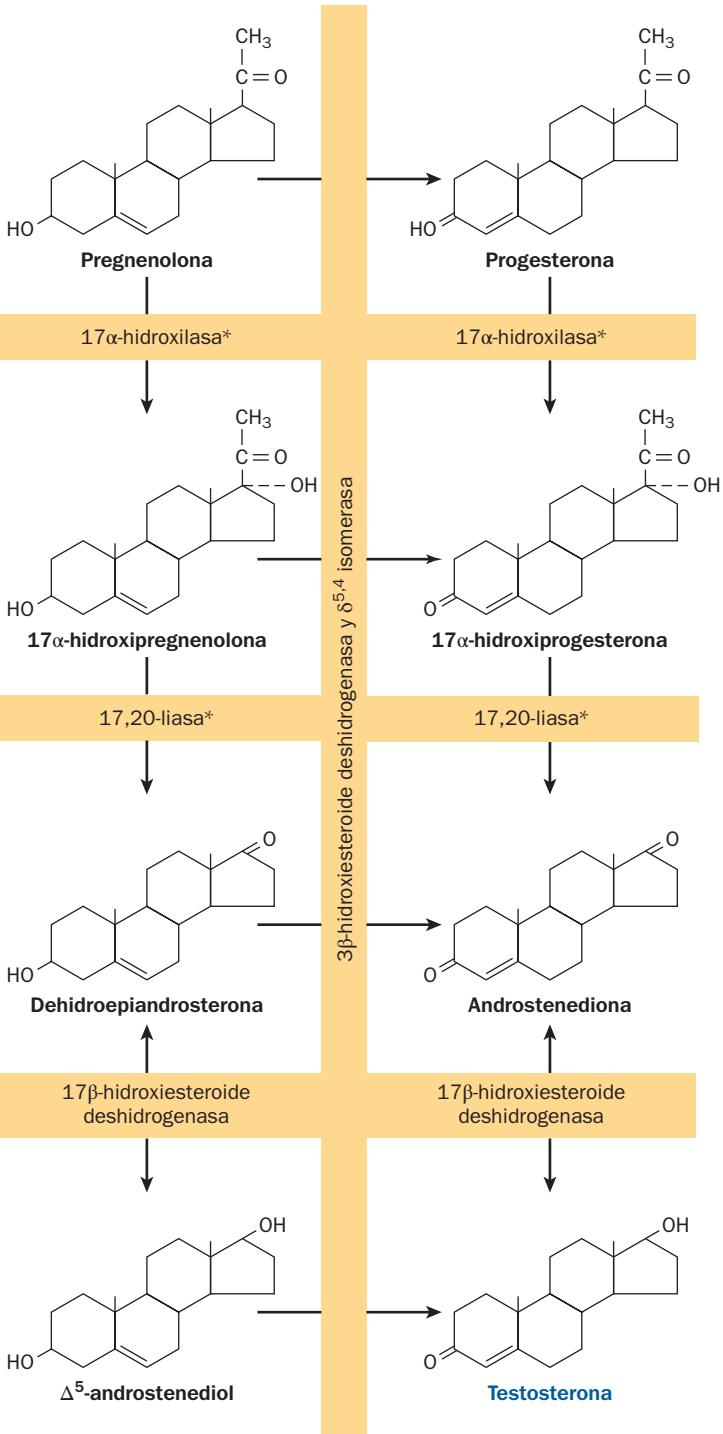


FIGURA 41-5 **Vías de la biosíntesis de testosterona.** La vía en el lado izquierdo de la figura se denomina vía Δ^5 o dehidroepiandrosterona; la vía en el lado derecho se llama vía Δ^4 o progesterona. El asterisco indica que las actividades de 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa residen en una sola proteína, P450c17.

que el complejo enzimático de la aromatasa incluye una monooxigenasa P450. El estradiol se forma si el sustrato de este complejo enzimático es la testosterona, mientras que la estrona es el resultado de la aromatización de la androstenediona.

La fuente celular de los diversos esteroides ováricos ha sido difícil de desentrañar, pero se trata de una transferencia de sustratos entre dos tipos de células. Las células de la teca son la fuente de androstenediona y testosterona. Estas son convertidas por la enzima aromatasa en células de la granulosa a estrona y estradiol, respectivamente. La progesterona, un precursor de todas las hormonas esteroides, es producida y secretada por el cuerpo lúteo como una hormona del producto final porque estas células no contienen

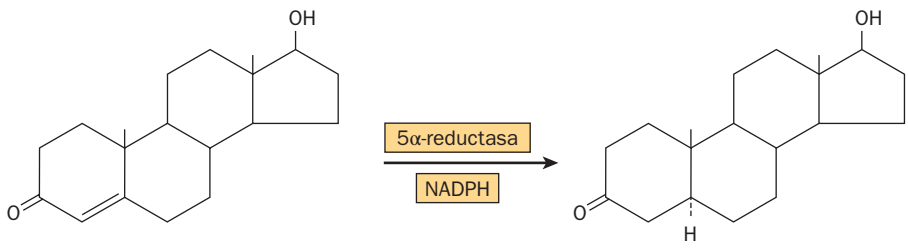


FIGURA 41-6 **La dihidrotestosterona se forma a partir de la testosterona a través de la acción de la enzima 5α-reductasa.**

las enzimas necesarias para convertir la progesterona en otras hormonas esteroides (figura 41-8).

Cantidades significativas de estrógenos son producidas por la aromatización periférica de los andrógenos. En humanos masculinos, la aromatización periférica de testosterona a estradiol (E_2) representa 80% de la producción de este último. En las mujeres, los andrógenos suprarrenales son sustratos importantes, ya que hasta 50% del E_2 producido durante el embarazo proviene de la aromatización de los andrógenos. Finalmente, la conversión de androstenediona a estrona es la principal fuente de estrógenos en mujeres posmenopáusicas. La actividad de la aromatasa está presente en las células adiposas y también en el hígado, la piel y otros tejidos. El aumento de la actividad de esta enzima puede contribuir a la "estrogenización" que caracteriza a enfermedades como la cirrosis del hígado, el hipertiroidismo, el envejecimiento y la obesidad. Los inhibidores de la aromatasa son prometedores como agentes terapéuticos en el cáncer de mama y posiblemente en otras neoplasias malignas del aparato reproductor femenino.

1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol) se sintetiza a partir de un derivado del colesterol

El 1,25(OH)$_2$-D$_3$ es producido por una serie compleja de reacciones enzimáticas que involucran el transporte de plasma de moléculas precursoras a varios tejidos diferentes (figura 41-9). Uno de estos precursores es la vitamina D, que en realidad no es una vitamina, pero es un nombre común que persiste. La molécula activa, 1,25(OH)$_2$-D$_3$, se transporta a otros órganos donde activa procesos

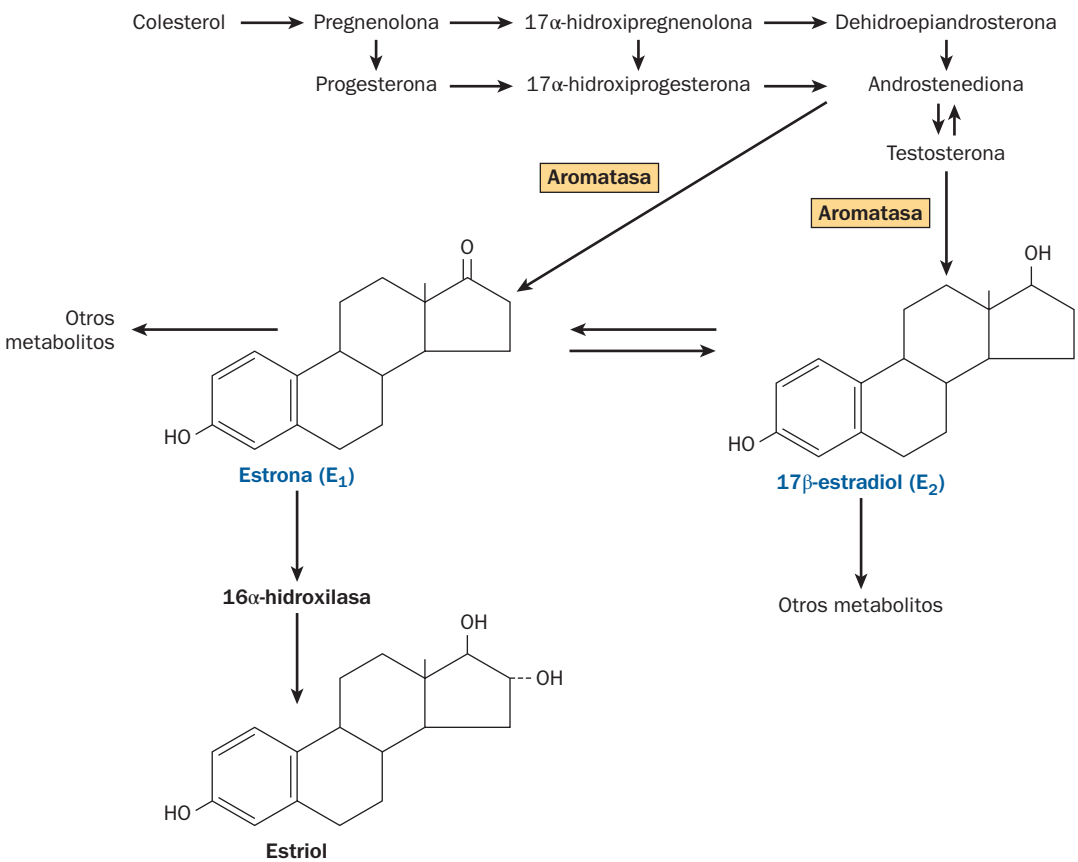


FIGURA 41-7 **Biosíntesis de estrógenos.** (Ligeramente modificado y reproducido, con permiso, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005).

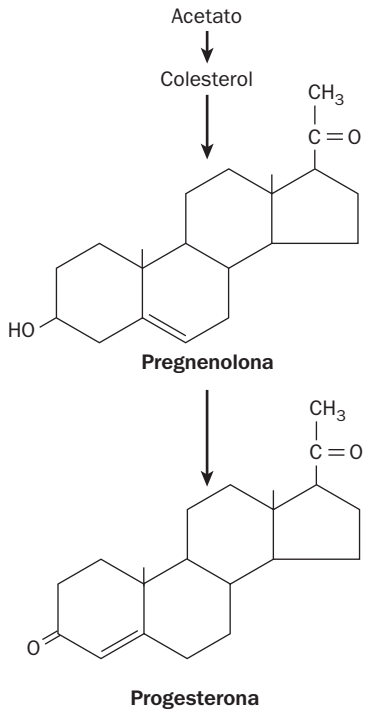


FIGURA 41-8 **Biosíntesis de progesterona en el cuerpo lúteo.**

biológicos de una manera similar a la empleada por las hormonas esteroides.

Piel

Pequeñas cantidades del precursor para la síntesis de $1,25(OH)_2$-D_3 están presentes en los alimentos (aceite de hígado de pescado y yema de huevo), pero la mayor parte del precursor para la síntesis de $1,25(OH)_2$-D_3 se produce en la capa de Malpighi de la epidermis a partir de 7-deshidrocolesterol en una reacción de fotólisis no enzimática mediada por la luz ultravioleta. El alcance de esta conversión se relaciona directamente con la intensidad de la exposición e inversamente con el grado de pigmentación en la piel. Hay una pérdida de 7-deshidrocolesterol vinculada con la edad en la epidermis que puede estar relacionada con el balance de calcio negativo asociado durante la vejez.

Hígado

Una proteína de transporte específica llamada proteína de unión a vitamina D se une a la vitamina D_3 y sus metabolitos y mueve la vitamina D_3 de la piel o del intestino al hígado, donde se somete a 25-hidroxilación, la primera reacción obligatoria en la producción de $1,25(OH)_2$-D_3. La 25-hidroxilación ocurre en el retículo endoplasmático en una reacción que requiere magnesio, NADPH, oxígeno molecular y un factor citoplásmico no caracterizado. Dos enzimas están involucradas: una reductasa del citocromo P450 dependiente de NADPH y un citocromo P450. Esta reacción no está

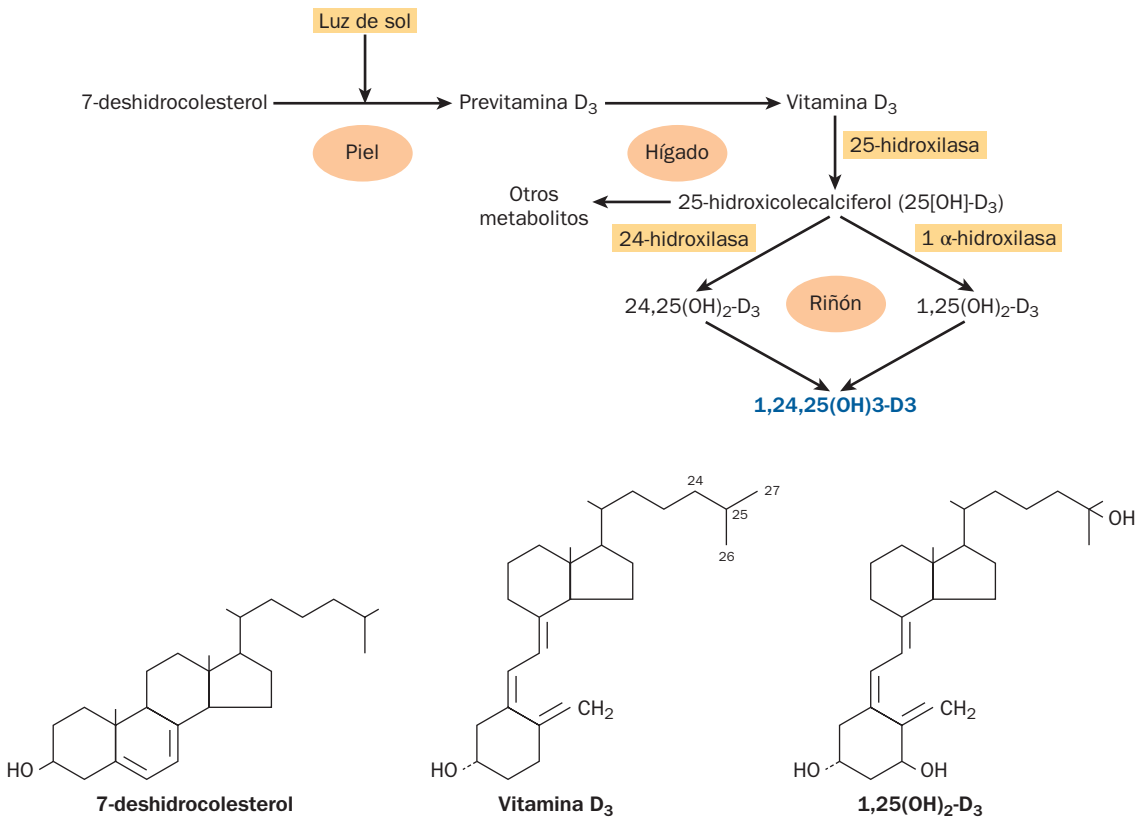


FIGURA 41-9 **Formación e hidroxilación de vitamina D_3.** La 25-hidroxilación tiene lugar en el hígado y las otras hidroxilaciones se producen en los riñones. El $1,26(OH)_2$-D_3 y el $1,25,26(OH)_3$-D_3 también se forman probablemente. Las estructuras de 7-deshidrocolesterol, vitamina D_3 y $1,25(OH)_2$-D_3 también se muestran. (Modificado y reproducido, con permiso, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005).

regulada, y también ocurre con baja eficiencia en el riñón y el intestino. El $25(OH)_2$-D_3 ingresa a la circulación, donde es la principal forma de vitamina D que se encuentra en el plasma, y es transportada al riñón por la proteína que se une a la vitamina D.

Riñón

El $25(OH)_2$-D_3 es un agonista débil y debe ser modificado por hidroxilación en la posición C_1 para una actividad biológica completa. Esto se logra en las mitocondrias del túbulo renal contorneado proximal mediante una reacción de monooxigenasa de tres componentes que requiere NADPH, Mg^{2+}, oxígeno molecular y al menos tres enzimas: 1) una flavoproteína, ferredoxina reductasa renal; 2) una proteína hierro-azufre, ferredoxina renal; y 3) citocromo P450. Este sistema produce $1,25(OH)_2$-D_3, que es el metabolito natural más potente de la vitamina D.

LAS CATECOLAMINAS Y LAS HORMONAS TIROIDEAS SE PRODUCEN A PARTIR DE LA TIROSINA

Las catecolaminas se sintetizan en forma final y se almacenan en gránulos de secreción

Tres aminas -dopamina, noradrenalina y adrenalina- se sintetizan a partir de la tirosina en las células cromafines de la médula suprarrenal. El principal producto de la médula suprarrenal es la adrenalina. Este compuesto constituye aproximadamente 80% de las catecolaminas en la médula y no se produce en el tejido extramedular. Por el contrario, la mayor parte de la noradrenalina presente en órganos inervados por los nervios simpáticos se produce *in situ* (aproximadamente 80% del total), y la mayor parte del resto se realiza en otras terminaciones nerviosas y alcanza los sitios blanco a través de la circulación. La adrenalina y la noradrenalina pueden producirse y almacenarse en diferentes células de la médula suprarrenal y otros tejidos cromafines.

La conversión de tirosina en adrenalina requiere cuatro pasos secuenciales: 1) anillo de hidroxilación; 2) descarboxilación; 3) hidroxilación de la cadena lateral para formar noradrenalina; y 4) N-metilación para formar adrenalina. La vía biosintética y las enzimas involucradas se ilustran en la figura 41-10.

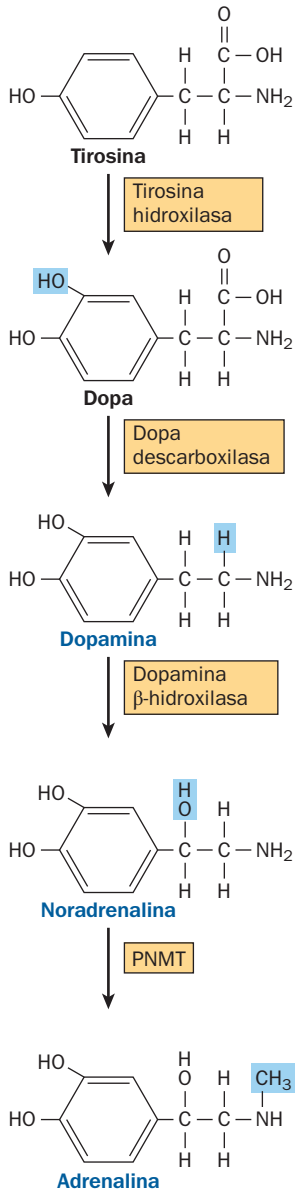


FIGURA 41-10 Biosíntesis de catecolaminas. (PNMT, feniletanolamina-N-metiltransferasa).

La tirosina hidroxilasa limita la velocidad para la biosíntesis de catecolaminas

La tirosina es el precursor inmediato de las catecolaminas, y la tirosina hidroxilasa es la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de catecolaminas. La tirosina hidroxilasa se encuentra en formas solubles y unidas a partículas sólo en tejidos que sintetizan catecolaminas; funciona como una oxidorreductasa, con tetrahidropteridina como cofactor, para convertir la L-tirosina en L-dihidroxifenilalanina (L-dopa). Como la enzima limitante de la velocidad, la tirosina hidroxilasa está regulada de varias maneras. El mecanismo más importante implica la inhibición por retroalimentación de las catecolaminas, que compiten con la enzima del cofactor pteridina. Las catecolaminas no pueden cruzar la barrera hematoencefálica; por tanto, deben sintetizarse localmente en el cerebro. En ciertas enfermedades del sistema nervioso central (p. ej., enfermedad de Parkinson), existe una deficiencia local de síntesis de dopamina. La L-dopa, el precursor de la dopamina, cruza fácilmente la barrera hematoencefálica y, por tanto, es un agente importante en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

Dopa descarboxilasa está presente en todos los tejidos

Esta enzima soluble requiere fosfato de piridoxal para la conversión de L-dopa en 3,4-dihidroxifeniletilamina (dopamina). Los compuestos que se parecen a la L-dopa, como la α-metildopa, son inhibidores competitivos de esta reacción. La α-metildopa es efectiva en el tratamiento de algunos tipos de hipertensión.

La dopamina β-hidroxilasa (DBH) cataliza la conversión de dopamina a noradrenalina

La DBH es una monooxigenasa y utiliza ascorbato como un donador de electrones, cobre en el sitio activo y fumarato como modulador.

La DBH está en la fracción de partículas de las células medulares, probablemente en el gránulo de secreción; por tanto, la conversión de dopamina a noradrenalina ocurre en este orgánulo.

La feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT) cataliza la producción de adrenalina

La PNMT cataliza la N-metilación de noradrenalina para formar adrenalina en las células formadoras de adrenalina de la médula suprarrenal. Dado que la PNMT es soluble, se supone que la conversión de noradrenalina a adrenalina se produce en el citoplasma. La síntesis de PNMT es inducida por las hormonas glucocorticoides que alcanzan la médula a través del sistema portal intraadrenal. Este sistema especial proporciona un gradiente de concentración de esteroides de 100 veces sobre la sangre arterial sistémica, y esta alta concentración intra-adrenal parece ser necesaria para la inducción de PNMT.

T_3 y T_4 ilustran la diversidad en la síntesis hormonal

La formación de triyodotironina (T_3) y tetrayodotironina (tiroxina, T_4) (véase figura 41-2) ilustra muchos de los principios de la diversidad discutidos en este capítulo. Estas hormonas requieren un elemento raro (yodo) para la bioactividad; se sintetizan como parte de una molécula precursora muy grande (tiroglobulina); se almacenan en un reservorio intracelular (coloide); y hay una conversión periférica de T_4 a T_3, que es una hormona mucho más activa.

Las hormonas tiroideas T_3 y T_4 son únicas, ya que el yodo como yoduro) es un componente esencial de ambas. En la mayor parte del mundo, el yodo es un componente escaso del suelo, y por esa razón hay poco en los alimentos. Un mecanismo complejo ha evolucionado para adquirir y retener este elemento crucial y para convertirlo en una forma adecuada para la incorporación en compuestos orgánicos. Al mismo tiempo, la tiroides debe sintetizar la tironina a partir de la tirosina, y esta síntesis tiene lugar en la tiroglobulina (figura 41-11).

La tiroglobulina es el precursor de T_4 y T_3. Es una gran proteína yodada glucosilada con una masa molecular de 660 kDa. Los carbohidratos representan entre 8 y 10% del peso de la tiroglobulina y el yoduro por alrededor de 0.2 a 1%, dependiendo del contenido de yodo en la dieta. La tiroglobulina se compone de dos subunidades grandes. Contiene 115 residuos de tirosina, cada uno de los cuales es un sitio potencial de yodación. Alrededor de 70% del yoduro en tiroglobulina existe en los precursores inactivos, la monoyodotirosina (MIT) y la diyodotirosina (DIT), mientras que 30% está en los residuos de yodotironilo, T_4 y T_3. Cuando los suministros de yodo son suficientes, la relación T_4: T_3 es de aproximadamente 7:1. En la deficiencia de yodo, esta relación disminuye, al igual que la relación DIT:MIT. La tiroglobulina, una molécula grande de aproximadamente 5 000 aminoácidos, proporciona la conformación requerida para el acoplamiento de tirosilo y la organificación del yoduro necesaria en la formación de las hormonas tiroideas diaminoacidas. Se sintetiza en la porción basal de la célula y se mueve hacia la luz, donde es una forma de almacenamiento de T_3 y T_4 en el coloide; el suministro de varias semanas de estas hormonas existe en la tiroides normal. Pocos minutos después de la estimulación de la tiroides por TSH, el coloide vuelve a entrar en la célula y hay un marcado aumento de la actividad de los fagolisosomas. Diversas proteasas y peptidasas ácidas hidrolizan la tiroglobulina en sus aminoácidos constituyentes, incluidos T_4 y T_3, que se descargan en el espacio extracelular (figura 41-11). La tiroglobulina es, por tanto, una prohormona muy grande.

El metabolismo del yoduro implica varios pasos discretos

La tiroides es capaz de concentrar I^- frente a un fuerte gradiente electroquímico. Este es un proceso dependiente de la energía y está relacionado con el transportador de I^- de la tiroides dependiente de Na^+-K^+-ATPasa. La relación de yoduro en tiroides a yoduro en suero (relación T: S) es un reflejo de la actividad de este transportador. Esta actividad es controlada principalmente por TSH y varía de 500:1 en animales crónicamente estimulados con TSH a 5:1, o menos en animales hipofisectomizados (sin TSH). La relación T:S en humanos con una dieta de yodo normal es de aproximadamente 25:1.

La tiroides es el único tejido que puede oxidar I^- a un estado de valencia más alto, un paso obligatorio en la I^- organización y la biosíntesis de la hormona tiroidea. Este paso implica una peroxidasa que contiene hemo y se produce en la superficie luminal de la célula folicular. La tiroperoxidasa, una proteína tetramérica con una masa molecular de 60 kDa, requiere peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como agente oxidante. El H_2O_2 es producido por una enzima dependiente de NADPH que se parece a la citocromo *c* reductasa. Varios compuestos inhiben la I-oxidación y, por tanto, su posterior incorporación a MIT y DIT. El más importante de estos son los medicamentos de tiourea. Se usan como fármacos antitiroideos debido a su capacidad para inhibir la biosíntesis de la hormona tiroidea en este paso. Una vez que ocurre la yodación, el yodo no sale fácilmente de la tiroides. La tirosina libre puede yodarse, pero no se incorpora a las proteínas ya que ningún tRNA reconoce la tirosina yodada.

El acoplamiento de dos moléculas DIT para formar T_4 o de una MIT y DIT para formar T_3 se produce dentro de la molécula de tiroglobulina. No se ha encontrado una enzima de acoplamiento separada, y dado que este es un proceso oxidativo, se supone que la misma tiroperoxidasa cataliza esta reacción estimulando la formación de radicales libres de yodotirosina. Esta hipótesis está respaldada por la observación de que los mismos medicamentos que inhiben la I^- oxidación también inhiben el acoplamiento. Las hormonas tiroideas formadas permanecen como partes integrales de la tiroglobulina hasta que esta última se degrada, como se describió anteriormente.

Una deiodinasa elimina I^- de las moléculas inactivas de mono y diyodotironina en la tiroides. Este mecanismo proporciona una cantidad sustancial del I^- utilizado en la biosíntesis de T_3 y T_4. Una deiodinasa periférica en los tejidos blanco, como la hipófisis, el riñón y el hígado, elimina selectivamente I^- de la posición 5 'de T_4 para formar T_3 (figura 41-2), que es una molécula mucho más activa. En este sentido, se puede pensar en T_4 como una prohormona, aunque tiene cierta actividad intrínseca.

Varias hormonas se sintetizan a partir de precursores de péptidos más grandes

La formación de los puentes disulfuro críticos en la insulina requiere que esta hormona se sintetice primero como parte de una molécula precursora más grande, la proinsulina. Esto es conceptualmente similar al ejemplo de las hormonas tiroideas, que sólo pueden formarse en el contexto de una molécula mucho más grande. Otras hormonas se sintetizan como partes de grandes molécu-

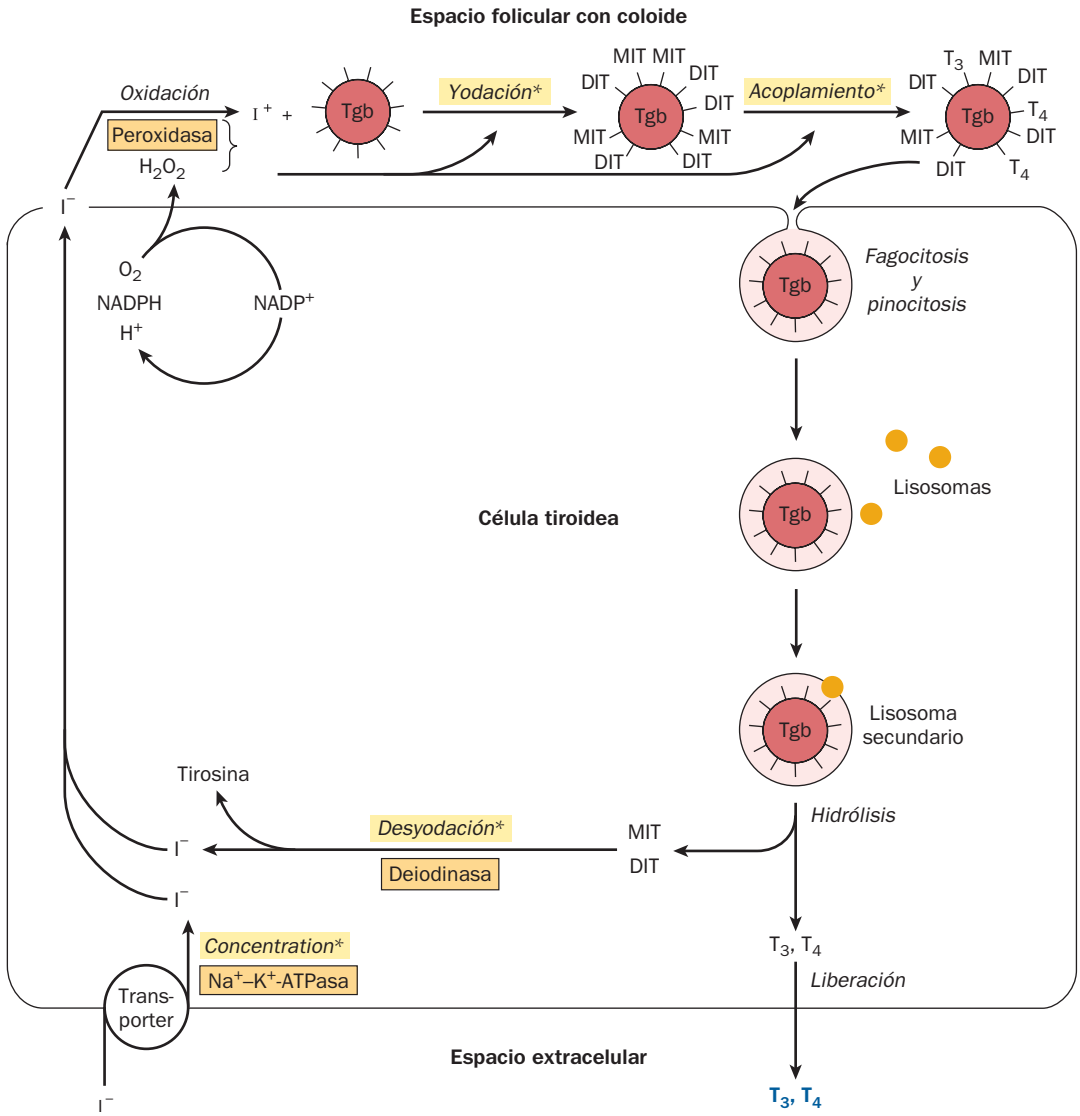


FIGURA 41-11 Modelo del metabolismo del yoduro en el folículo tiroideo. Se muestra una célula folicular frente al lumen folicular (arriba) y el espacio extracelular (abajo). El yoduro ingresa a la tiroides principalmente a través de un transportador (abajo a la izquierda). La síntesis de la hormona tiroidea ocurre en el espacio folicular a través de una serie de reacciones, muchas de las cuales son mediadas por peroxidasa. Las hormonas tiroideas, almacenadas en el coloide en el espacio folicular, se liberan de la tiroglobulina por hidrólisis dentro de la célula tiroidea. (DIT, diyodotirosina; MIT, monoyodotirosina; TGB, tiroglobulina; T_3, triyodotironina; T_4, tetrayodotironina, las estructuras de T_3 y T_4 se muestran en la figura 41-2B). Los asteriscos indican los pasos o procesos en los que las deficiencias enzimáticas heredadas causan el bocio congénito y a menudo dan como resultado hipotiroidismo.

las precursoras, no debido a algún requisito estructural especial, sino más bien como un mecanismo para controlar la cantidad disponible de la hormona activa. La paratiroides (PTH) y la angiotensina II son ejemplos de este tipo de regulación. Otro ejemplo interesante es la proteína proopiomelanocortina (POMC), que puede procesarse en muchas hormonas diferentes de una manera específica para el tejido. Estos ejemplos se discuten detalladamente a continuación.

La insulina se sintetiza como una preprohormona y se modifica dentro de la célula β

La insulina tiene una estructura heterodimérica AB con un puente intercadena (A6-A11) y dos puentes disulfuro intercadenas (A7-B7 y A20-B19) (figura 41-12). Las cadenas A y B podrían sintetizarse en el laboratorio, pero los intentos de una síntesis bioquímica de la molécula de insulina madura arrojaron resultados muy pobres. La razón de esto se hizo evidente cuando se descubrió que la insulina se sintetiza como una preprohormona (peso molecular ~11 500), que es el prototipo de los péptidos que se procesan a partir de moléculas precursoras más grandes. La secuencia hidrofóbica de 23 aminoácidos pre, o líder, dirige la molécula a las cisternas del retículo endoplasmático y luego se elimina. Esto da como resultado la molécula de proinsulina de 9 000-MW, que proporciona la conformación necesaria para la formación adecuada y eficiente de los puentes disulfuro. Como se muestra en la figura 41-12, la secuencia de proinsulina, que comienza en el extremo amino, es la cadena B –péptido de conexión (C)– cadena A. La molécula de proinsulina

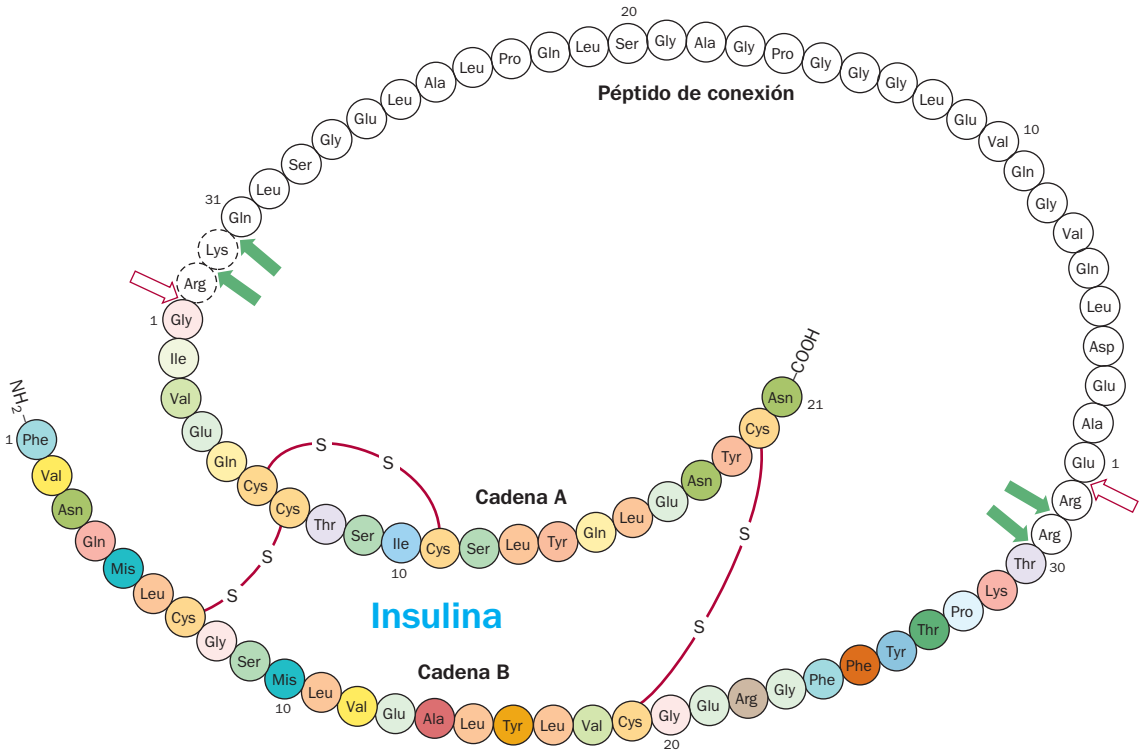


FIGURA 41-12 **Estructura de la proinsulina humana.** Las moléculas de insulina y péptido C están conectadas en dos sitios mediante enlaces peptídicos. Una escisión inicial por una enzima tipo tripsina (flechas rojas abiertas) seguida de varias hendiduras por una enzima similar a carboxipeptidasa (flechas sólidas verdes) da como resultado la producción de la molécula de insulina heterodimérica (AB) (coloreada), que se mantiene unida por dos enlaces disulfuro de cisteína intrapéptidos; péptido C de insulina (blanco).

se somete a una serie de escisión de péptidos específicos de sitio que dan como resultado la formación de cantidades equimolares de insulina madura y péptido C. Estas divisiones enzimáticas se resumen en la figura 41-12.

La PTH se secreta como un péptido de 84 aminoácidos

El precursor inmediato de la paratiroides (PTH) es la proPTH, que difiere de la hormona nativa de 84 aminoácidos por tener una extensión amino-terminal hexapéptido muy básica. El producto génico primario y el precursor inmediato de proPTH es la preproPTH de 115 aminoácidos. Esto difiere de proPTH al tener una extensión adicional de NH_2-terminal de 25 aminoácidos que es común con las otras secuencias líder o señal, características de las proteínas secretadas; es de naturaleza predominantemente hidrofóbica. La estructura completa de pre-proPTH y las secuencias de proPTH y PTH se ilustran en la figura 41-13. La $PTH_{1\text{-}34}$ tiene actividad biológica completa, y la región de 25 a 34 es principalmente responsable de la unión del receptor.

La biosíntesis de PTH y su posterior secreción están reguladas por la concentración de calcio ionizado en el plasma (Ca^{2+}) a través de un proceso complejo. Una disminución aguda de Ca^{2+} da como resultado un aumento marcado del mRNA de PTH, y esto es seguido por un aumento de la tasa de síntesis y secreción de PTH. Sin embargo, alrededor de 80 a 90% de la proPTH sintetizada no se puede contabilizar como PTH intacta en las células o en el medio de incubación de los sistemas experimentales. Este hallazgo llevó a la conclusión de que la mayor parte de la proPTH sintetizada se degrada rápidamente. Más tarde se descubrió que esta velocidad de degradación disminuye cuando las concentraciones de Ca^{2+} son bajas, y aumenta cuando las concentraciones de Ca^{2+} son altas. Un receptor de Ca^{2+} en la superficie de la célula paratiroidea media estos efectos. Se generan fragmentos muy específicos de PTH durante su digestión proteolítica (figura 41-13). Se han identificado varias enzimas proteolíticas, que incluyen las catepsinas B y D, en el tejido paratiroideo. La catepsina B escinde la PTH en dos fragmentos: $PTH_{1\text{-}36}$ y $PTH_{37\text{-}84}$. La $PTH_{37\text{-}84}$ no se degrada más; sin embargo, la $PTH_{1\text{-}36}$ se escinde rápida y progresivamente en di y tripéptidos. La mayoría de la proteólisis de la PTH ocurre dentro de la glándula, pero varios estudios confirman que la PTH, una vez secretada, se degrada de manera proteolítica en otros tejidos, especialmente en el hígado, por mecanismos similares.

La angiotensina II también se sintetiza a partir de un gran precursor

El sistema renina-angiotensina está involucrado en la regulación de la presión arterial y del metabolismo electrolítico (a través de la producción de aldosterona). La principal hormona involucrada en estos procesos es la angiotensina II, un octapéptido formado a partir de un angiotensinógeno (figura 41-14). El angiotensinógeno, una gran α2-globulina fabricada en el hígado, es el sustrato de la renina, una enzima producida en las células yuxtaglomerulares de la arteriola aferente renal. La posición de estas células las hace particularmente sensibles a los cambios de la presión arterial, y muchos de los regu-

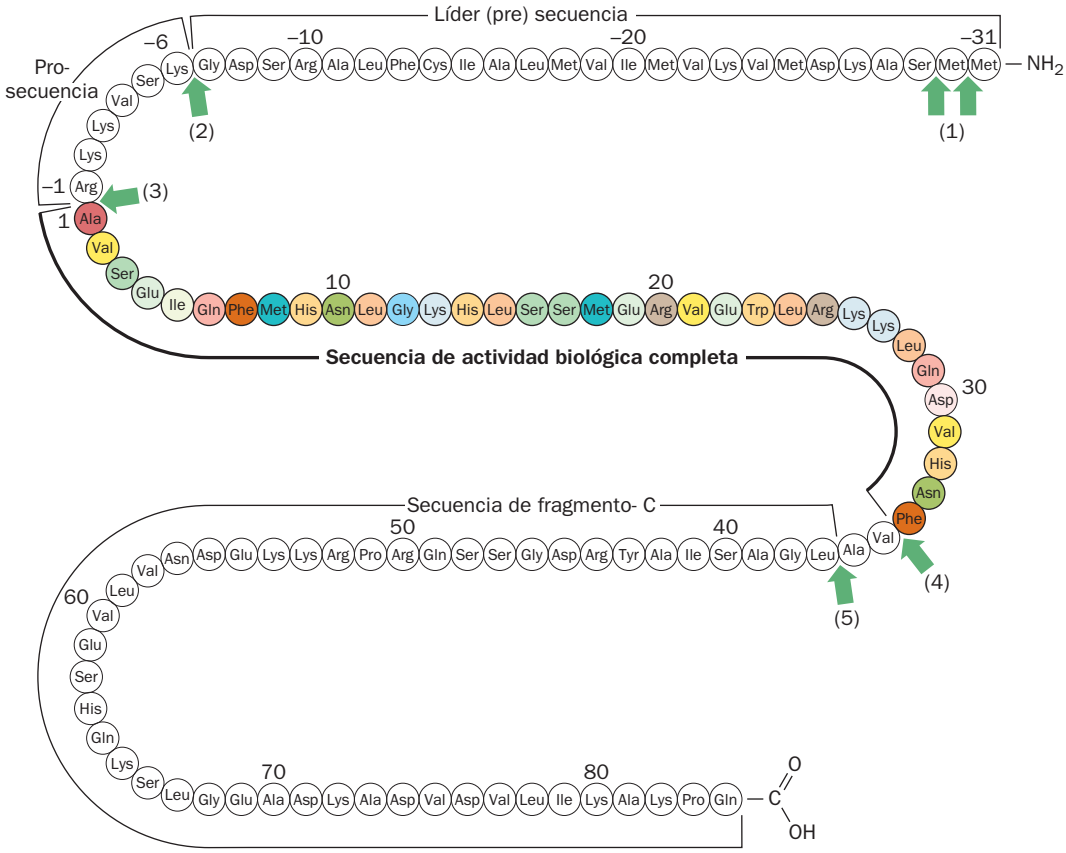


FIGURA 41-13 **Estructura de la hormona preproparatiroidea bovina.** Las flechas verdes indican sitios de escisión mediante el procesamiento de enzimas en la glándula paratiroides y en el hígado después de la secreción de la hormona (numeradas del 1 al 5). La región biológicamente activa de la molécula (coloreada) está flanqueada por una secuencia no requerida para la actividad en los receptores blanco. (Ligeramente modificado y reproducido, con autorización, de Habener JF: Avances recientes en la investigación de la hormona paratiroidea. *Clin Biochem* 1981;14:223. Copyright© 1981. Reproducido con permiso de Elsevier).

ladores fisiológicos de la liberación de renina actúan a través de los barorreceptores renales. Las células yuxtaglomerulares también son sensibles a los cambios de la concentración de Na^+ y Cl^- en el líquido tubular renal; por tanto, cualquier combinación de factores que disminuya el volumen de líquido (deshidratación, disminución de la presión arterial, fluidos o pérdida de sangre) o disminuya la concentración de NaCl estimula la liberación de renina. Los nervios simpáticos renales que terminan en las células yuxtaglomerulares median el sistema nervioso central y los efectos posturales sobre la liberación de renina independientemente del barorreceptor y los efectos de la sal, un mecanismo que involucra al receptor β-adrenérgico. La renina actúa sobre el sustrato angiotensinógeno para producir el decapéptido angiotensina I.

La enzima convertidora de angiotensina (ACE), una glucoproteína que se encuentra en pulmón, células endoteliales y plasma, elimina dos aminoácidos carboxilo terminales del decapéptido angiotensina I para formar angiotensina II en un paso que no se cree que limite la velocidad. Varios análogos nonapéptidos de angiotensina I y otros compuestos actúan como inhibidores competitivos de la enzima convertidora y se usan para tratar la hipertensión dependiente de renina. Estos se conocen como inhibidores de la ACE. La angiotensina II aumenta la presión arterial al causar vasoconstricción de la arteriola y es una sustancia vasoactiva muy potente. Inhibe la liberación de renina de las células yuxtaglomerulares y es un potente estimulador de la producción de aldosterona. Esto produce retención de Na^+, expansión de volumen y aumento de la presión arterial.

En algunas especies, la angiotensina II se convierte en el heptapéptido angiotensina III (figura 41-14), un estimulador igualmente potente de la producción de aldosterona. En los seres humanos, el nivel plasmático de angiotensina II es cuatro veces mayor que el de la angiotensina III, por lo que el octapéptido ejerce la mayoría de los efectos. Las angiotensinas II y III son rápidamente inactivadas por las angiotensinasas.

La angiotensina II se une a receptores específicos de la célula glomerulosa de la corteza suprarrenal. La interacción hormona-receptor no activa la adenilil ciclasa, y el cAMP no parece mediar en la acción de esta hormona. Las acciones de la angiotensina II, que estimulan la conversión de colesterol en pregnenolona y de corticosterona en 18-hidroxicorticosterona y aldosterona, pueden implicar cambios en la concentración de calcio intracelular y de metabolitos de fosfolípidos mediante mecanismos similares a los descritos en el capítulo 42.

El procesamiento complejo genera la familia de péptidos proopiomelanocortina

La familia POMC consta de péptidos que actúan como hormonas (ACTH, LPH, MSH) y otros que pueden servir como neurotransmisores o neuromoduladores (endorfinas) (figura 41-15). POMC se

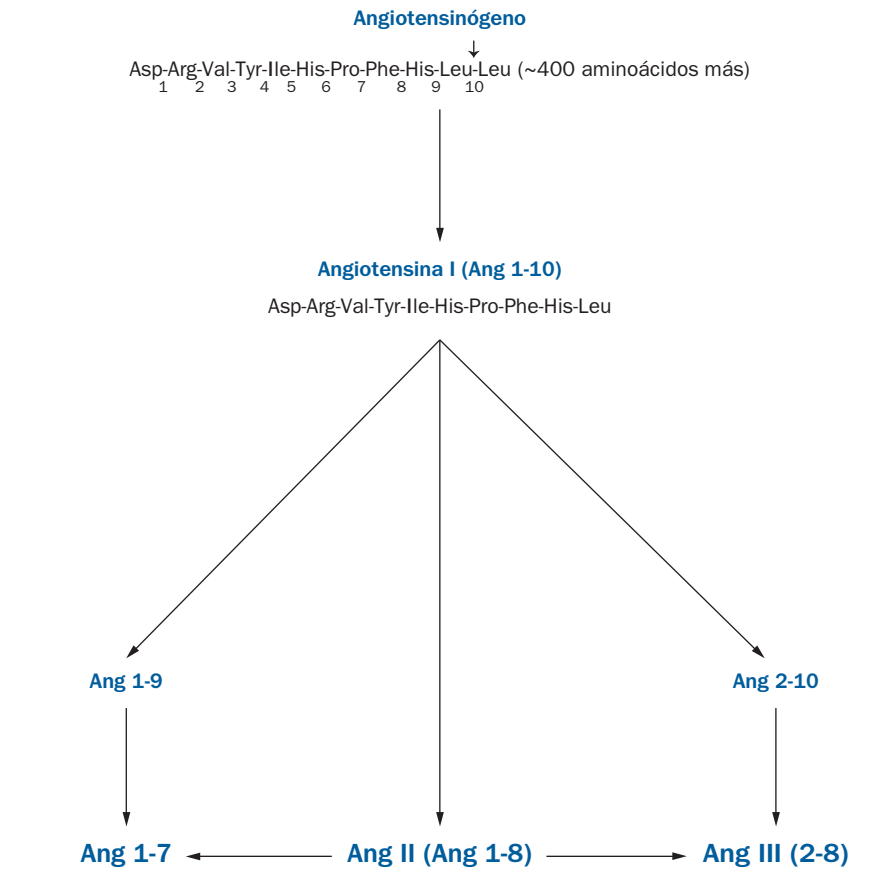


FIGURA 41-14 **Formación, metabolismo y actividades fisiológicas seleccionadas de las angiotensinas.** Se muestran las tres formas biológicamente más activas de angiotensina (Ang), Ang 1-7, Ang 1-8 (Ang II) y Ang 2-8 (Ang III). Los números representan los aminoácidos presentes en cada Ang, y están numerados en relación con la secuencia de Ang 1-10 (Ang I). Todas las formas de Ang se derivan por la proteólisis catalizada por varias proteasas diferentes. El procesamiento inicial del precursor de angiotensinógeno de más de 400 aminoácidos es catalizado por renina, mientras que varios de los otros eventos proteolíticos son catalizados por la enzima convertidora de angiotensina 1 (ACE1) o ACE2. Los receptores unidos por las diferentes formas de Ang, así como los resultados fisiológicos de la unión al receptor se muestran (**abajo**).

sintetiza como una molécula precursora de 285 aminoácidos y se procesa de manera diferente en diversas regiones de la hipófisis.

El gen POMC se expresa en los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis. Las secuencias más conservadas entre las especies se encuentran dentro del fragmento amino-terminal, la región de ACTH y la región de endorfina β. El POMC o productos relacionados se encuentran en muchos otros tejidos de vertebrados, incluidos el cerebro, la placenta, el tracto gastrointestinal, el tracto reproductivo, los pulmones y los linfocitos.

La proteína POMC se procesa de manera diferente en el lóbulo anterior que en el lóbulo intermedio. El lóbulo intermedio de la hipófisis es rudimentario en los humanos adultos, pero es activo en fetos humanos y en mujeres embarazadas durante la última gestación y también es activo en muchas especies animales. El procesamiento de la proteína POMC en los tejidos periféricos (intestino, placenta y tracto reproductor masculino) se asemeja al del lóbulo intermedio. Hay tres grupos peptídicos básicos: 1) ACTH, que puede dar lugar a α-MSH y péptido del lóbulo intermedio similar a la corticotropina (CLIP); 2) β-lipotropina (β-LPH), que puede producir γ-LPH, β-MSH y β-endorfina (y por tanto α- y γ-endorfinas); y 3) un péptido amino-terminal grande, que genera γ-MSH (no mostrado). La diversidad de estos productos se debe a los muchos grupos de aminoácidos dibásicos que son posibles sitios de escisión para las enzimas de tipo tripsina. Cada uno de los péptidos mencionados está precedido por residuos Lys-Arg, Arg-Lys, Arg-Arg o Lys-Lys. Después de escindir el segmento prehormonal, la siguiente escisión, en los lóbulos anterior e intermedio, se encuentra entre ACTH y β-LPH, lo que da como resultado un péptido amino-termi-

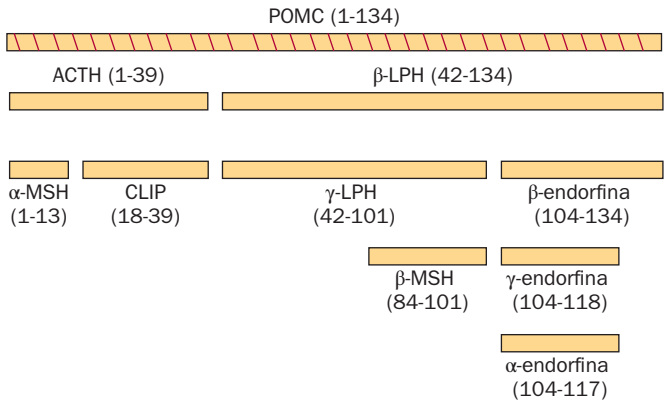


FIGURA 41-15 Productos de escisión proopiomelanocortina (POMC). (CLIP, péptido del lóbulo intermedio de tipo corticotropina, LPH, lipotropina, MSH, hormona estimulante de melanocitos).

nal con ACTH y un segmento β-LPH (figura 41-15). La $ACTH_{1-39}$ se escinde posteriormente del péptido amino-terminal, y en el lóbulo anterior esencialmente no se producen divisiones adicionales. En el lóbulo intermedio, la $ACTH_{1-39}$ se divide en α-MSH (residuos 1-13) y CLIP (18-39); β-LPH (42-134) se convierte en γ-LPH (42-101) y β-endorfina (104-134). β-MSH (84-101) se deriva de γ-LPH, mientras que γ-MSH (50-74) se deriva de un fragmento POMC N-terminal (1-74).

Existen extensas modificaciones adicionales específicas de tejido de estos péptidos que afectan la actividad. Estas modificaciones incluyen fosforilación, acetilación, glucosilación y amidación.

Las mutaciones del receptor de α-MSH están relacionadas con una forma común de obesidad de inicio temprano. Esta observación ha redirigido la atención a las hormonas peptídicas POMC.

HAY VARIACIÓN EN EL ALMACENAMIENTO Y SECRECIÓN DE HORMONAS

Como se mencionó anteriormente, las hormonas esteroides y $1,25(OH)_2$-D_3 se sintetizan en su forma activa final. También se secretan a medida que se producen y, por tanto, no existe un reservorio intracelular de estas hormonas. Las catecolaminas, también sintetizadas en forma activa, se almacenan en gránulos en las células cromafines en la médula suprarrenal. En respuesta a la estimulación neural apropiada, estos gránulos se liberan de la célula a través de la exocitosis, y las catecolaminas se liberan en la circulación. Un suministro de reserva de varias horas de catecolaminas existe en las células cromafines.

La PTH también existe en vesículas de almacenamiento. Entre 80 y 90% de la proPTH sintetizada se degrada antes de que entre en este compartimiento de almacenamiento final, especialmente cuando los niveles de Ca^{2+} son altos en la célula paratiroidea (véase más arriba). La PTH se secreta cuando el Ca^{2+} es bajo en las células paratiroideas, que contienen un suministro de varias horas de la hormona.

El páncreas humano secreta alrededor de 40 a 50 unidades de insulina al día; esto representa alrededor de 15 a 20% de la hormona almacenada en las células β. La insulina y el péptido C (figura 41-12) se secretan normalmente en cantidades equimolares. Los estímulos como la glucosa, que provoca la secreción de insulina, desencadenan el procesamiento de proinsulina a insulina, como parte esencial de la respuesta secretora.

Existe un suministro de varias semanas de T_3 y T_4 en la tiroglobulina que se almacena en coloide en la luz de los folículos tiroideos. Estas hormonas pueden liberarse tras la estimulación con TSH. Este es el ejemplo más exagerado de una prohormona, ya que una molécula que contiene ~5 000 aminoácidos debe sintetizarse primero, luego degradarse, para suministrar algunas moléculas de las hormonas activas T_4 y T_3.

La diversidad en el almacenamiento y la secreción de hormonas se ilustra en el cuadro 41-5.

ALGUNAS HORMONAS TIENEN PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE TRANSPORTE

Las hormonas de clase I son hidrofóbicas en naturaleza química y, por tanto, no son muy solubles en el plasma. Estas hormonas, principalmente los esteroides y las hormonas tiroideas, tienen proteínas plasmáticas de transporte especializadas que sirven para varios propósitos. En primer lugar, estas proteínas eluden el problema de solubilidad y de ese modo entregan la hormona a la célula blanco. También proporcionan un depósito circulante de la hormona que puede ser sustancial, como en el caso de las hormonas tiroideas. Las hormonas, cuando se unen a las proteínas de transporte, no se pueden metabolizar, lo que prolonga su vida media plasmática ($t_{½}$). La afinidad de unión de una hormona dada a su transportador determina la relación de la hormona ligada *versus* libre. Esto es

CUADRO 41-5 Diversidad en el almacenamiento de hormonas

Hormona	Suministro almacenado en la célula
Esteroides y $1,25(OH)_2$-D_3	Ninguna
Catecolaminas y PTH	Horas
Insulina	Días
T_3 y T_4	Semanas

importante porque sólo la forma libre de una hormona es biológicamente activa. En general, la concentración de hormona libre en el plasma es muy baja, en el rango de 10^{-15} a 10^{-9} mol/L. Es importante distinguir entre las proteínas de transporte plasmáticas y los receptores de hormonas. Ambos se unen a las hormonas, pero con características muy diferentes (cuadro 41-6).

Las hormonas hidrofílicas, generalmente clase II y de estructura peptídica, son libremente solubles en el plasma y no requieren proteínas de transporte. Las hormonas como la insulina, la hormona de crecimiento, la ACTH y la TSH circulan en forma libre y activa y tienen vidas medias plasmáticas muy cortas. Una excepción notable es IGF-I, que se transporta unida a miembros de una familia de proteínas de unión.

Las hormonas tiroideas son transportadas por globulina fijadora tiroidea

Muchos de los principios discutidos anteriormente se ilustran en una discusión de proteínas de unión tiroidea. Entre la mitad y dos tercios de T_4 y T_3 en el cuerpo se encuentran en un reservorio extratiroideo. La mayoría de esto circula en forma ligada, es decir, unido a una proteína de unión específica, la globulina fijadora de tiroxina (TBG). La TBG, una glucoproteína con una masa molecular de 50 kDa, se une a T_4 y T_3 y tiene la capacidad de unirse a 20 µg/dL de plasma. En circunstancias normales, TBG se une de forma no covalente a casi la totalidad de T_4 y T_3 en plasma, y se une a T_4 con mayor afinidad que T_3 (cuadro 41-7). La vida media plasmática de T_4 es correspondientemente de cuatro a cinco veces la de T_3. La fracción pequeña, no unida (libre) es responsable de la actividad biológica. Por tanto, a pesar de la gran diferencia en la cantidad total, la fracción libre de T_3 se aproxima a la de T_4, y dado que T_3 es intrínsecamente más activa que T_4, la mayor parte de la actividad biológica se atribuye a T_3. TBG no une ninguna otra hormona.

Los glucocorticoides se transportan por la globulina fijadora de glucocorticoides

La hidrocortisona (cortisol) también circula en el plasma en forma libre y unida a proteína. La principal proteína de unión plasmática es una α-globulina llamada transcortina o globulina fijadora de corticosteroides (CBG). La CBG se produce en el hígado y su síntesis, como la de TBG, aumenta con los estrógenos. La CBG se une a la mayoría de la hormona cuando los niveles plasmáticos de cortisol están dentro del rango normal; cantidades mucho más pequeñas de cortisol se unen a la albúmina. La afinidad de la unión ayuda a determinar las semividas biológicas de diversos glucocorticoides. El cortisol se une fuertemente a la CBG y tiene una $t_{½}$ de 1.5 a 2 horas, mientras que la corticosterona, que se une con menos fuerza, tiene una $t_{½}$ de <1 hora (cuadro 41-8). El cortisol no unido (libre) constituye ~8% del total y representa la fracción biológicamente activa. La unión a CBG no está restringida a glucocorticoides. La desoxicorticosterona y la progesterona interactúan con CBG con suficiente afinidad para competir por la unión de cortisol. La aldosterona, el mineralocorticoide natural más potente, no tiene una proteína específica plasmática de transporte. Los esteroides gonadales se unen muy débilmente a la CBG (cuadro 41-8).

Los esteroides gonadales son transportados por las globulinas fijadoras de hormonas sexuales

La mayoría de los mamíferos, incluidos los humanos, tienen una β-globulina plasmática que se une a la testosterona con especificidad, afinidad relativamente alta y capacidad limitada (cuadro 41-8). Esta proteína, generalmente llamada globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG) o globulina fijadora de estrógenos y testosterona (TEBG), se produce en el hígado. Su producción aumenta con los estrógenos (las mujeres tienen el doble de concentración sérica de SHBG que los hombres), ciertos tipos de enfermedad hepática e hipertiroidismo; disminuye por los andrógenos, edad avanzada e hipotiroidismo. Muchas de estas condiciones también

CUADRO 41-7 Comparación de T_4 y T_3 en el plasma

	Hormona libre				
Hormona	Total (µg/dL)	Porcentaje del total	ng/dL	Molaridad	$t_{1/2}$ en sangre (días)
T_4	8	0.03	~2.24	3.0×10^{-11}	6.5
T_3	0.15	0.3	~0.4	0.6×10^{-11}	1.5

CUADRO 41-6 Comparación de receptores con proteínas de transporte

Característica	Receptores	Proteínas de transporte
Concentración	Muy bajo (miles/celular)	Muy alto (miles de millones/µL)
Afinidad de unión (K_d)	Alto (rango de pmol/L a nmol/L)	Bajo (rango de µmol/L)
Especificidad de unión	Muy alto	Bajo
Saturabilidad	Sí	No
Reversibilidad	Sí	Sí
Transducción de señales	Sí	No

CUADRO 41-8 Afinidades aproximadas de esteroides para las proteínas fijadoras séricas

	SHBG[a]	CBG[a]
Dihidrotestosterona	1	>100
Testosterona	2	>100
Estradiol	5	>10
Estrona	>10	>100
Progesterona	>100	~2
Cortisol	>100	~3
Corticosterona	>100	~5

[a] Afinidad expresada como K_d (nmol/L).
Abreviaturas: CBG, globulina fijadora de corticosteroides; SHBG, globulina fijadora de hormonas sexuales.

afectan la producción de CBG y TBG. Como la SHBG y la albúmina se unen de 97 a 99% de la testosterona circulante, sólo una pequeña fracción de la hormona en circulación se encuentra en la forma libre (biológicamente activa). La función principal de SHBG puede ser restringir la concentración libre de testosterona en el suero. La testosterona se une a SHBG con mayor afinidad que el estradiol (cuadro 41-8). Por tanto, un cambio en el nivel de SHBG causa un mayor cambio en el nivel de testosterona libre que en el nivel de estradiol libre.

Los estrógenos están ligados a SHBG y progestinas a CBG. SHBG se une al estradiol unas cinco veces menos ávidamente de lo que se une a la testosterona o DHT, mientras que la progesterona y el cortisol tienen poca afinidad por esta proteína (cuadro 41-8). Por el contrario, la progesterona y el cortisol se unen con una afinidad casi igual a la CBG, que a su vez tiene poca afinidad por el estradiol y aún menos por la testosterona, la DHT o la estrona.

Estas proteínas de unión también proporcionan un reservorio de hormona circulante y, debido a la capacidad de unión relativamente grande, probablemente protegen contra cambios repentinos en el nivel del plasma. Debido a que las tasas de eliminación metabólica de estos esteroides están inversamente relacionadas con la afinidad de su unión a SHBG, la estrona se elimina más rápidamente que el estradiol, que a su vez se elimina más rápidamente que la testosterona o la DHT.

RESUMEN

- La presencia de un receptor específico define a las células blanco para una hormona determinada.
- Los receptores son proteínas que se unen a hormonas específicas y generan una señal intracelular (acoplamiento receptor-efector).
- Algunas hormonas tienen receptores intracelulares; otras se unen a receptores en la membrana plasmática.
- Las hormonas se sintetizan a partir de varias moléculas precursoras, incluido el colesterol, la tirosina *per se* y todos los aminoácidos constituyentes de péptidos y proteínas.
- Varios procesos de modificación alteran la actividad de las hormonas. Por ejemplo, muchas hormonas se sintetizan a partir de moléculas precursoras más grandes.
- El complemento de enzimas en un tipo de célula particular permite la producción de una clase específica de hormona esteroidea.
- La mayoría de las hormonas liposolubles están ligadas a proteínas de transporte plasmáticas bastante específicas.

REFERENCIAS

Bain DL, Heneghan AF, Connaghan-Jones KD, Miura MT: Nuclear receptor structure: implications for function. *Annu Rev Physiol* 2007;-69:201-220.

Bartalina L: Thyroid hormone-binding proteins: update 1994. *Endocr Rev* 1994;13:140-142.

Cristina Casals-Casas C, Desvergne B: Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol* 2011;73:135-162.

DeLuca HR: The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. *FASEB J* 1988;2:224-236.

Douglass J, Civelli O, Herbert E: Polyprotein gene expression: generation of diversity of neuroendocrine peptides. *Annu Rev Biochem* 1984;53:665-715.

Farooqi IS, O'Rahilly S: Monogenic obesity in humans. *Annu Rev Med* 2005;56:443-458.

Fan W, Atkins AR, Yu RT, *et al*: Road to exercise mimetics: targeting nuclear receptor in skeletal muscle. *J Mol Endocrinol* 2013;51:T87-T100.

Hah N, Kraus WL: Hormone-regulated transcriptomes: lessons learned from estrogen signaling pathways in breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 2014;382:652-664.

Miller WL: Molecular biology of steroid hormone biosynthesis. *Endocr Rev* 1988;9:295-318.

Russell DW, Wilson JD: Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem* 1994;63:25-61.

Steiner DF, Smeekens SP, Ohagi S, *et al*: The new enzymology of precursor processing endoproteases. *J Biol Chem* 1992;267: 23435-23438.

Taguchi A, White M: Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. *Annu Rev Physiol* 2008;70:191-212.

Weikum ER, Knuesel MT, Ortlund EA, Yamamoto KR: Glucocorticoid receptor control of transcription: precision and plasticity via allostery. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18:159-174.

Xu Y, O'Malley BW, Elmquist JK: Brain nuclear receptors and body weight regulation. *J Clin Invest* 2017;127:1172-1180.

CAPÍTULO

42

Transducción de señal y acción hormonal

P. Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar los roles del estímulo, la liberación de hormonas, la generación de señales y la respuesta efectora en los procesos fisiológicos regulados por hormonas.
- Describir el papel de los receptores y las proteínas G que unen nucleótidos de guanosina en la transducción de señales hormonales, particularmente con respecto a la generación de segundos mensajeros.
- Apreciar los complejos patrones de la diafonía de la vía de transducción de señales en la mediación de productos fisiológicos complicados.
- Comprender los roles clave que desempeñan las interacciones proteína-ligando, proteína-proteína, modificación postranslacional de proteínas y proteína-DNA en los procesos fisiológicos mediados por hormonas.
- Detallar por qué los receptores modulados con hormonas, los segundos mensajeros y las moléculas de señalización asociadas representan una rica fuente para un potencial desarrollo del medicamento blanco, debido a sus papeles clave en la regulación de la fisiología.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las adaptaciones homeostáticas que hace un organismo en un entorno en constante cambio se alcanzan, en gran parte, mediante alteraciones de la actividad y de la cantidad de proteínas. Las hormonas proporcionan un medio importante para facilitar estos cambios. Una interacción hormona-receptor da como resultado la generación de una señal intracelular amplificada que puede regular la actividad de un conjunto selecto de genes que altera las cantidades de ciertas proteínas en la célula blanco o afecta la actividad de proteínas específicas, incluidas enzimas, transportadores o proteínas de canal. Las señales pueden influir en la ubicación de las proteínas en la célula y, a menudo, afectan procesos generales como la síntesis de proteínas, el crecimiento celular y la replicación, a través de sus efectos sobre la expresión genética. Otras moléculas de señalización, que incluyen citoquinas, interleuquinas, factores de crecimiento y metabolitos, utilizan algunos de los mismos mecanismos generales y vías de transducción de señales. La producción y la liberación excesiva, deficiente o inapropiada de hormonas y otras moléculas reguladoras de señalización son las principales causas de la enfermedad. Muchos agentes farmacoterapéuticos están destinados a corregir o influir en las vías que se analizan en este capítulo.

LAS HORMONAS TRANSDUCEN SEÑALES PARA AFECTAR A LOS MECANISMOS HOMEOSTÁTICOS

Los pasos generales involucrados en producir una respuesta coordinada a un estímulo particular se ilustran en la figura 42-1. El estímulo puede ser un desafío o una amenaza para el organismo, para un órgano o para la integridad de una sola célula dentro de ese organismo. El reconocimiento del estímulo es el primer paso en la respuesta adaptativa. En el nivel organísmico, esto generalmente involucra el sistema nervioso y los sentidos especiales (vista, oído, dolor, olfato y tacto). A nivel de órgano, tejido o celular, el reconocimiento involucra factores fisicoquímicos como pH, tensión de O_2, temperatura, suministro de nutrientes, metabolitos nocivos y osmolaridad. El reconocimiento apropiado da como resultado la liberación de una o más hormonas que regirán la generación de la respuesta adaptativa necesaria. Para los fines de esta discusión, las hormonas se clasifican como se describe en el cuadro 41-4, es decir, en función de la ubicación de sus receptores celulares específicos y el tipo de señales generadas. Las hormonas del grupo I interaccionan con un receptor intracelular y las hormonas del grupo II con sitios de reconocimiento del receptor ubicados en la

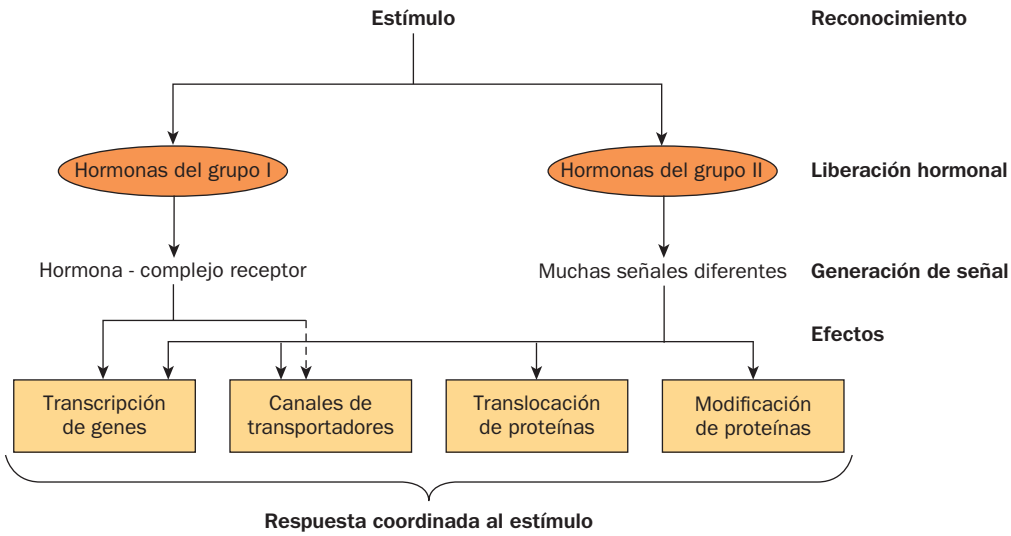


FIGURA 42-1 Participación hormonal en las respuestas a un estímulo. Las necesidades fisiológicas, o desafíos a la integridad del organismo, provocan una respuesta que incluye la liberación de una o más hormonas. Estas hormonas generan señales en o dentro de las células blanco y estas regulan una variedad de procesos biológicos que proporcionan una respuesta coordinada al estímulo o al desafío. Véase figura 42-8 para un ejemplo específico.

superficie extracelular de la membrana plasmática de las células blanco. Las citoquinas, las interleucinas y los factores de crecimiento también deben considerarse en esta última categoría. Estas moléculas, de importancia crítica en la adaptación homeostática, son hormonas en el sentido de que se producen en células específicas, tienen el equivalente de acciones autocrinas, paracrinas y endocrinas, se unen a los receptores de la superficie celular y activan muchas de las mismas vías de transducción de señales empleada por las hormonas más tradicionales del grupo II.

GENERACIÓN DE SEÑALES

El complejo ligando-receptor es la señal de las hormonas del grupo I

Las hormonas lipofílicas del grupo I se difunden a través de la membrana plasmática de todas las células, pero sólo encuentran sus receptores intracelulares específicos de alta afinidad en las células blanco. Estos receptores pueden localizarse en el citoplasma o en el núcleo de las células blanco. El complejo hormona-receptor primero se somete a una reacción de activación. Como se muestra en la figura 42-2, la activación del receptor ocurre por al menos dos mecanismos. Por ejemplo, los glucocorticoides se difunden a través de la membrana plasmática y encuentran su receptor análogo en el citoplasma de las células blanco. La unión ligando-receptor da como resultado un cambio conformacional en el receptor que conduce a la disociación de la proteína de choque térmico 90 (hsp90). Este paso es necesario para la posterior localización nuclear del receptor de glucocorticoides (GR, *glucocorticoid receptor*). Este receptor también contiene una secuencia de localización nuclear que ahora es libre de ayudar en la translocación del citoplasma al núcleo. El receptor activado se mueve hacia el núcleo (figura 42-2) y se une con gran afinidad a una secuencia de DNA específica llamada elemento de respuesta hormonal (HRE, *hormone response element*). En el caso de GR, este es un elemento de respuesta glucocorticoide (GRE, *glucocorticoid response element*). Las secuencias de

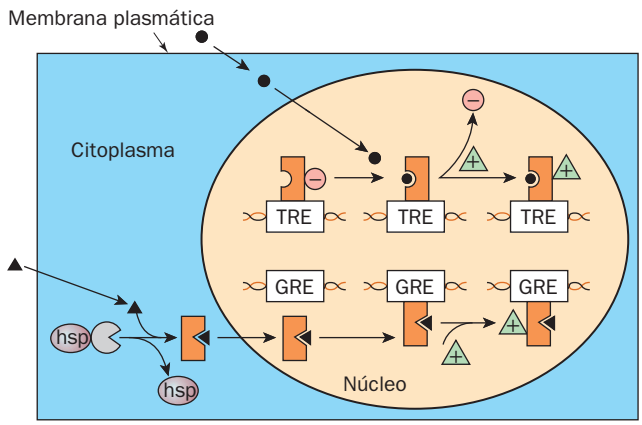


FIGURA 42-2 Regulación de la expresión genética por dos hormonas diferentes del grupo I, la hormona tiroidea y los glucocorticoides. Las hormonas esteroides hidrofóbicas obtienen fácilmente acceso al compartimiento citoplásmico de las células blanco por difusión a través de la membrana plasmática. Las hormonas glucocorticoides (triángulos rellenos) encuentran su receptor afín (GR) en el citoplasma donde existe GR en un complejo con una proteína chaperona, la proteína de choque térmico 90 (hsp). La unión del ligando provoca la disociación de hsp90 y un cambio conformacional del receptor. El complejo receptor-ligando atraviesa la membrana nuclear y se une al DNA con especificidad y alta afinidad en un elemento de respuesta a glucocorticoides (GRE). Este evento afecta la arquitectura de un número de correguladores de transcripción (triángulos verdes) y se obtiene una transcripción mejorada. Por el contrario, las hormonas tiroideas y el ácido retinoico (círculo negro) ingresan directamente al núcleo, donde sus receptores heterodiméricos (TR-RXR, véase figura 42-12) ya están unidos a los elementos de respuesta apropiados con un complejo correpresor de transcripción asociado (círculos rojos). Se produce la unión de hormonas, que de nuevo induce cambios conformacionales en el receptor que conducen a la disociación del complejo correpresor del receptor, lo que permite que se ensamble un complejo activador, que consiste en TR-TRE y coactivador. El gen se transcribe activamente.

CUADRO 42-1 Secuencias de DNA de varios elementos de respuesta hormonal (HREs)[a]

Hormona o efector	HRE	Secuencia de DNA
Glucocorticoides	GRE	GGTACA NNN TGTTCT ←— —→
Progestinas	PRE	
Mineralocorticoides	MRE	
Andrógenos	ARE	
Estrógenos	ERE	AGGTCA — TGACCT ←— —→
Hormona tiroidea	TRE	AGGTCA $N_{(1-5)}$ AGGTCA —→ —→
Ácido retinoico	RARE	
Vitamina D	VDRE	
cAMP	CRE	TGACGTCA

[a]Las letras indican nucleótido; N significa que cualquiera de los cuatro puede usarse en esa posición. Las flechas que apuntan en direcciones opuestas ilustran los palíndromos ligeramente imperfectos invertidos presentes en muchos HRE; en algunos casos, estos se denominan "sitios de unión intermedia" o medios sitios, ya que cada uno se une a un monómero del receptor. El GRE, PRE, MRE y ARE constan de la misma secuencia de DNA. La especificidad puede ser conferida por la concentración intracelular del ligando o del receptor de la hormona, al flanquear las secuencias de DNA no incluidas en el consenso, o por otros elementos de acceso. Un segundo grupo de HRE incluyen los de hormonas tiroideas, estrógenos, ácido retinoico y vitamina D. Estos HRE son similares, excepto por la orientación y el espacio entre los medio palíndromos. El espaciamiento determina la especificidad de la hormona. VDRE (n = 3), TRE (n = 4) y RARE (n = 5) se unen a las repeticiones directas en lugar de las repeticiones invertidas. Otro miembro de la superfamilia de receptores de esteroides, el receptor retinoide X (RXR), forma heterodímeros con VDR, TR y RARE, y estos constituyen las formas funcionales de estos factores transactivos vinculantes de DNA. cAMP afecta la transcripción de genes a través de la CRE.

consenso para HRE se muestran en el cuadro 42-1. El receptor ligando unido a DNA sirve como un objetivo de unión de alta afinidad para una o más proteínas coactivadoras, y la transcripción genética acelerada típicamente se produce cuando esto ocurre. Por el contrario, ciertas hormonas, como las hormonas tiroideas y los retinoides, se difunden desde el líquido extracelular a través de la membrana plasmática y van directamente al núcleo. En este caso, el receptor afín ya está unido al HRE (el elemento de respuesta de la hormona tiroidea [TRE, *thyroid hormone response element*], en este ejemplo). Sin embargo, este receptor unido a DNA no puede activar la transcripción porque existe en complejo con un correpresor. De hecho, este complejo receptor-correpresor sirve como un represor tónico de la transcripción genética. La asociación del ligando con estos receptores da como resultado la disociación del (de los) correpresor(es). El receptor ligante ahora es capaz de unirse a uno o más coactivadores con alta afinidad, lo que da como resultado el reclutamiento de la RNA polimerasa II y los GTF y la activación de la transcripción genética como se indicó anteriormente para el complejo GR-GRE. La relación de los receptores hormonales con otros receptores nucleares y correguladores se analiza con más detalle a continuación.

Al afectar selectivamente a la transcripción genética y la consecuente producción de mRNA blanco apropiados, se modifican las cantidades de proteínas específicas y se influyen en los procesos metabólicos. La influencia de cada una de estas hormonas es muy específica; en general, una hormona determinada afecta directamente <1% de los genes, mRNA o proteínas en una célula blanco; a veces sólo unos pocos se ven afectados. Las acciones nucleares de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides están bastante bien definidas. La mayoría de la evidencia sugiere que estas hormonas ejercen su efecto dominante sobre la modulación de la transcripción genética, pero ellas y muchas de las hormonas de las otras clases que se analizan a continuación pueden actuar en cualquier paso de la "vía de información", como se ilustra en la figura 42-3, para controlar la expresión genética específica y, en última instancia, una respuesta biológica. También se han descrito acciones directas de los esteroides en el citoplasma y en diversos orgánulos y membranas. Recientemente, microRNA e lncRNA han sido implicados en la mediación de algunas de las diversas acciones de las hormonas.

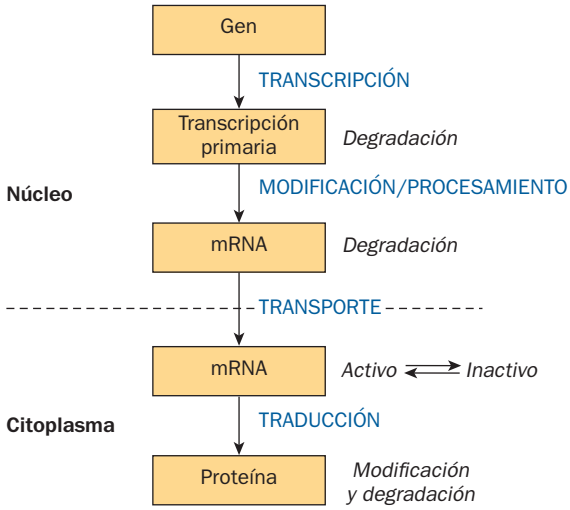


FIGURA 42-3 La "vía de información". La información fluye desde el gen a la transcripción primaria de mRNA a proteína. Las hormonas pueden afectar a cualquiera de los pasos involucrados así como las velocidades de procesamiento, degradación o modificación de los diversos productos.

GRUPO II (PÉPTIDO Y CATECOLAMINA) LAS HORMONAS TIENEN RECEPTORES DE MEMBRANA Y UTILIZAN MENSAJEROS INTRACELULARES

Muchas hormonas son solubles en agua, no tienen proteínas de transporte (y por tanto tienen una vida media plasmática corta) e inician una respuesta uniéndose a un receptor ubicado en la membrana plasmática (véanse cuadros 41-3 y 41-4). El mecanismo de acción de este grupo de hormonas se puede discutir mejor en términos de las señales intracelulares que generan. Estas señales incluyen cAMP (AMP ácido cíclico, 3′, 5′-adenílico, véase figura 18-5), un nucleótido derivado de ATP a través de la acción de la adenilil ciclasa; cGMP, un nucleótido formado a partir de GTP por guanilil ciclasa; Ca^{2+}; y fosfatidilinosítidos; tales moléculas pequeñas se denominan segundos mensajeros ya que su síntesis se desenca-

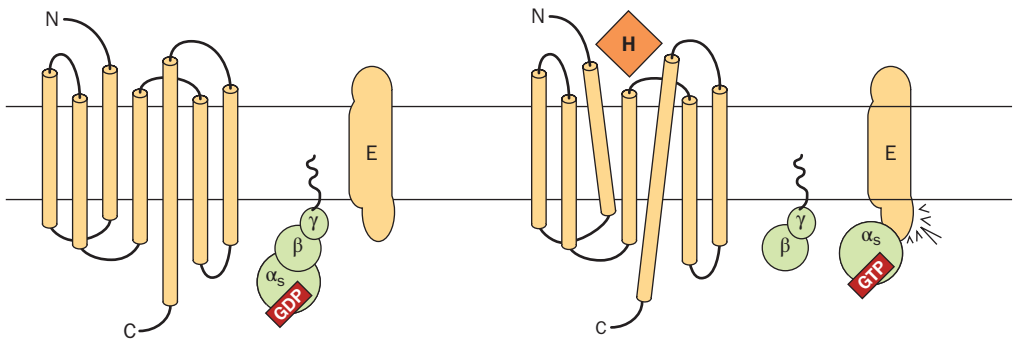


FIGURA 42-4 Componentes del sistema efector de la hormona receptor-G-proteína. Los receptores que se acoplan a los efectores a través de las proteínas G, los receptores acoplados a la proteína G (GPCRs, *G-protein–coupled receptors*), tienen típicamente siete dominios que abarcan la membrana α-helicoidal (aquí se muestran como cilindros largos). En ausencia de hormona (izquierda), el complejo heterotrimérico de proteína G (α, β, γ) se encuentra en una forma inactiva guanosina difosfato (GDP, *guanosine diphosphate*) y probablemente no esté asociado con el receptor. Este complejo está anclado a la membrana plasmática a través de grupos prenilados en las subunidades βγ (líneas onduladas) y quizá por grupos miristoilados en subunidades α (no se muestra). Al unirse la hormona (H) al receptor, hay cambios conformacionales dentro del receptor (como lo indican los dominios inclinados que abarcan la membrana) y la asociación del complejo de proteína G con el receptor reordenado, esto activa el complejo de proteína G. Esta activación resulta del intercambio de GDP con trifosfato de guanosina (GTP, *guanosine triphosphate*) en la subunidad α, después de lo cual se disocian α y βγ. La subunidad α se une a y activa el efector (E). E puede ser adenilil ciclasa, Ca^{2+}, Na^+ o canales de Cl^- (α_s), o podría ser un canal de K^+ (α_i), fosfolipasa Cβ (α_q) o cGMP fosfodiesterasa (α_t); véase cuadro 42-3. La subunidad βγ también puede tener acciones directas sobre E. (Modificada y reproducida, con permiso, de Granner DK. En: *Principios y práctica de endocrinología y metabolismo*, 2nd ed. Becker KL (editor). Lippincott, 1995).

dena por la presencia de la hormona primaria (molécula) que se une a su receptor. Muchos de estos segundos mensajeros afectan la transcripción de genes, como se describe en el párrafo anterior; pero también influyen en una variedad de otros procesos biológicos, como se muestra en la figura 42-3, pero también en las figuras 42-6 y 42-8.

Receptores acoplados a proteínas G

Muchas de las hormonas del grupo II se unen a los receptores que se acoplan a los efectores a través de un intermediario de proteína de unión a guanina (proteínas G). Estos receptores tienen típicamente siete dominios de membrana hidrofóbica atravesada por una hélice α, ilustrados aquí por los siete cilindros interconectados que se extienden a través de la bicapa lipídica en la figura 42-4. Los receptores de esta clase, que se denominan a través de proteínas G, se conocen como receptores acoplados a proteína G (GPCRs, *G-protein–coupled receptors*). Hasta la fecha, se han identificado cientos de genes GPCR y representan la familia más grande de receptores de superficie celular en los humanos. No es sorprendente que una amplia variedad de respuestas estén mediadas por los GPCR.

cAMP es la señal intracelular para muchas respuestas

El AMP cíclico (cAMP, *cyclic AMP*) fue la primera señal de segundo mensajero intracelular identificada en células de mamíferos. Varios componentes comprenden un sistema para la generación, degradación y acción de cAMP (cuadro 42-2).

Adenilil ciclasa

Las diferentes hormonas peptídicas pueden estimular o inhibir (i) la producción de cAMP a partir de adenilil ciclasa a través de la acción de las proteínas G. Las proteínas G están codificadas por al menos 10 genes diferentes (cuadro 42-3). Dos sistemas paralelos, un estimulador (s) uno y un inhibitorio (i) uno, convergen en una molécula catalítica (C). Cada uno consiste en un receptor, R_s o R_i, y un complejo regulatorio de proteína G denominado G_s y G_i. Tanto G_s como G_i son proteínas G heterotriméricas compuestas de

CUADRO 42-2 Subclasificación de hormonas del grupo II.A

Hormonas que estimulan la adenilil ciclasa (H_S)	Hormonas que inhiben la adenilil ciclasa (H_I)
ACTH	Acetilcolina
ADH	α_2-adrenérgicos
β-adrenérgicos	Angiotensina II
Calcitonina	Somatostatina
CRH	
FSH	
Glucagón	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

Abreviaturas: ACTH, hormona adrenocorticotropa; ADH, hormona antidiurética; CRH, hormona liberadora de corticotropina; FSH, hormona folículo estimulante; hCG, gonadotropina coriónica humana; LH, hormona luteinizante; LPH, lipotropina; MSH, hormona estimulante de melanocitos; PTH, hormona paratiroidea; TSH, hormona estimulante de la tiroides.

CUADRO 42-3 Clases y funciones de proteínas G[a] seleccionadas

Clase o tipo	Estímulo	Efector	Efecto
G_s			
α_s	Glucagón, β-adrenérgicos	↑Adenilil ciclasa	Gluconeogénesis, lipólisis, glucogenólisis
		↑Canales cardiacos de Ca^{2+}, Cl^- y Na^+	Olfacción
α_{olf}	Odorante	↑Adenilil ciclasa	
G_i			
$\alpha_{i\text{-}1,2,3}$	Acetilcolina, α_2-adrenérgicos	↓Adenilil ciclasa	Frecuencia cardiaca más lenta
		↑Canales de potasio	
	Colinérgicos M_2	↓Canales de calcio	
α_o	Opioides, endorfinas	↑Canales de potasio	Actividad eléctrica neuronal
α_t	Luz	↑cGMP Fosfodiesterasa	Visión
G_q			
α_q	Colinérgicos M_1		
	α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β1	↓Contracción muscular
α_{11}	α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β2	↓Presión arterial
G_{12}			
α_{12}	Trombina	Rho	Cambios de forma de la célula

[a] Las cuatro principales clases o familias de proteínas G de los mamíferos (G_s, G_i, G_q y G_{12}) se basan en la conservación de la secuencia de las proteínas. Se muestran miembros representativos de cada uno, junto con estímulos conocidos, efectores y efectos biológicos bien definidos. Se han identificado nueve isoformas de adenilil ciclasa (isoformas I-IX). Todas las isoformas son estimuladas por α_s; las isoformas α_i inhiben los tipos V y VI, y α_0 inhibe los tipos I y V. Se han identificado al menos 16 subunidades α diferentes.

Fuente: Modificado y reproducido, con permiso, de Granner DK: En: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 2nd ed. Becker KL (editor). Lippincott, 1995.

subunidades α, β y γ. Dado que la subunidad α en G_s difiere de la de G_i, las proteínas, que son productos genéticos distintos, se denominan α_s y α_i. Las subunidades α se unen a nucleótidos de guanina. Las subunidades β y γ están probablemente asociadas (βγ) y parecen funcionar predominantemente como un heterodímero. La unión de una hormona a R_s o R_i da como resultado una activación mediada por receptor de la proteína G, que implica el intercambio de GDP por GTP en α y la disociación concomitante de βγ de α.

La proteína α_s tiene actividad de GTPasa intrínseca. La forma activa, α_s-GTP, se inactiva en la hidrólisis de GTP a GDP; el complejo trimérico G_s (αβγ) se reforma y está listo para otro ciclo de activación. Las toxinas del cólera y la tosferina catalizan la ribosilación de ADP de α_s y $\alpha_{i\text{-}2}$ (cuadro 42-3), respectivamente. En el caso de α_s, esta modificación interrumpe la actividad de GTPasa intrínseca; por tanto, α_s no puede reasociarse con βγ y, por tanto, se activa irreversiblemente. ADP ribosilación de $\alpha_{i\text{-}2}$ evita la disociación de $\alpha_{i\text{-}2}$ de βγ, y $\alpha_{i\text{-}2}$ libre, por tanto, no se puede formar. La actividad de α_s en tales células, por tanto, no tiene oposición.

Hay una gran familia de proteínas G, y estas son parte de la superfamilia de GTPasas. La familia de proteína G se clasifica de acuerdo con la homología de secuencia en cuatro subfamilias, como se ilustra en el cuadro 42-3. Hay 21 genes de la subunidad α, 5 β y 8 γ. Diversas combinaciones de estas subunidades proporcionan una gran cantidad de complejos αβγ posibles.

Las subunidades α y el complejo βγ tienen acciones independientes de las de adenilil ciclasa (véanse la figura 42-4 y el cuadro 42-3). Algunas formas de α_i estimulan los canales de K^+ e inhiben los canales de Ca^{2+}, y algunas moléculas de α_s tienen los efectos opuestos. Los miembros de la familia G_q activan el grupo de enzimas fosfolipasa C. Los complejos βγ se han asociado con la estimulación del canal de K^+ y con la activación de la fosfolipasa C. Las proteínas G están involucradas en muchos procesos biológicos importantes además de la acción hormonal. Los ejemplos notables incluyen olfacción (α_{OLF}) y visión (α_t). Algunos ejemplos se enumeran en el cuadro 42-3. Los GPCR están implicados en una serie de enfermedades y son objetivos principales para los agentes farmacéuticos.

Proteína quinasa

Como se discutió en el capítulo 38, en las células procariotas, cAMP se une con una proteína específica llamada proteína activadora de cAMP (CAP, *cAMP activator protein*) que se une directamente al DNA e influye en la expresión genética. Por el contrario, en las células eucariotas, cAMP se une a una proteína quinasa llamada proteína quinasa A (PKA, *protein kinase A*), una molécula heterotetramérica que consta de dos subunidades reguladoras (R) que inhiben la actividad de las dos subunidades catalíticas (C) cuando se unen como un complejo tetramérico. La unión de cAMP al tetrámero R_2C_2 da como resultado la siguiente reacción:

$$4\text{cAMP} + R_2C_2 \rightleftarrows R_2\text{-}4\text{cAMP} + 2C$$

El complejo R_2C_2 no tiene actividad enzimática, pero la unión de cAMP a la subunidad R induce la disociación del complejo R-C, activando así el último (figura 42-5). La subunidad C activa cataliza la transferencia del fosfato γ de ATP a un residuo de serina o treonina en una variedad de proteínas. Los sitios de fosforilación de PKA de consenso son -ArgArg/Lys-X-Ser/Thr- y -Arg-Lys-X-X-Ser^-, donde X puede ser cualquier aminoácido.

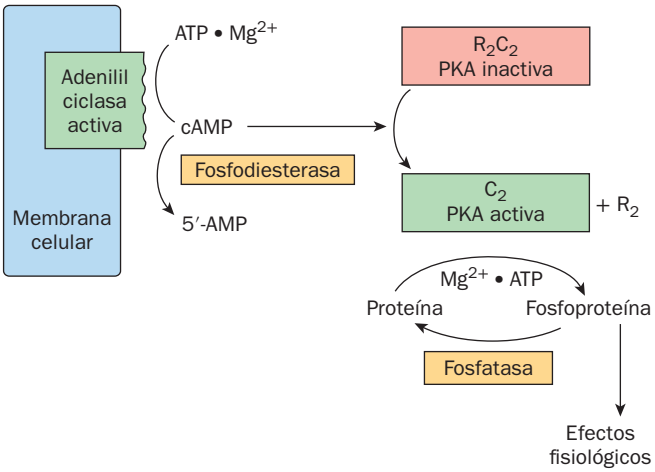


FIGURA 42-5 Regulación hormonal de los procesos celulares a través de la proteína quinasa dependiente de cAMP (PKA). La PKA existe en una forma inactiva como un heterotetrámero R_2C_2 que consiste en dos subunidades reguladoras (R) y dos catalíticas (C). El cAMP generado por la acción de la adenilil ciclasa (activado como se muestra en la figura 42-4) se une a la subunidad reguladora de la PKA. Esto da como resultado la disociación de las subunidades reguladoras y catalíticas y la activación de esta última. Las subunidades catalíticas activas fosforilan varias proteínas blanco en los residuos de serina y treonina. Las fosfatasas eliminan el fosfato de estos residuos y así terminan la respuesta fisiológica. Una fosfodiesterasa también puede terminar la respuesta convirtiendo el cAMP en 5'-AMP.

Históricamente, las actividades de proteína quinasa se describieron como "dependientes de cAMP" o "independientes de cAMP". Esta clasificación ha cambiado, ya que ahora se reconoce que la fosforilación de proteínas es un mecanismo regulador importante y omnipresente. Se han descrito varios cientos de proteínas quinasas. Estas quinasas están relacionadas en secuencia y estructura dentro del dominio catalítico, pero cada una es una molécula única con considerable variabilidad con respecto de la composición de la subunidad, peso molecular, autofosforilación, K_m para el ATP y especificidad del sustrato. Las actividades tanto de la quinasa como de la proteína fosfatasa pueden ser dirigidas por interacción con proteínas específicas de unión a quinasas. En el caso de la PKA, tales proteínas blanco se denominan proteínas de anclaje de la quinasa, o AKAP (*A kinase anchoring proteins*). Las AKAP sirven como andamios, que localizan PKA cerca de los sustratos, enfocando así la actividad PKA hacia sustratos fisiológicos y facilitando la regulación biológica espacio-temporal al tiempo que permiten que las proteínas compartidas comunes provoquen respuestas fisiológicas específicas. Se han descrito múltiples AKAP y, lo que es más importante, pueden unirse a PKA y otras quinasas, así como a fosfatasas, fosfodiesterasas (que hidrolizan cAMP) y sustratos de proteína quinasa. La multifuncionalidad de las AKAP facilita la localización de señales, la velocidad (producción y destrucción de señales), la especificidad y la dinámica.

Fosfoproteínas

Se cree que los efectos del cAMP en las células eucariotas están mediados por la fosforilación-desfosforilación de las proteínas, principalmente en los residuos de serina y treonina. El control de cualquiera de los efectos de cAMP, incluidos procesos tan diversos como esteroidogénesis, secreción, transporte de iones, metabolismo de carbohidratos y grasas, inducción enzimática, regulación genética, transmisión sináptica y crecimiento y replicación celular, podría ser conferido por una proteína quinasa específica, por una fosfatasa específica, o por sustratos específicos para la fosforilación. La matriz de sustratos específicos contribuye de forma crítica a definir un tejido blanco, y están involucrados en la definición del alcance de una respuesta particular dentro de una célula determinada. Por ejemplo, los efectos de cAMP sobre la transcripción genética están mediados por la proteína de unión al elemento de respuesta de AMP cíclico (CREB, *cAMP response element binding*). Cuando CREB se une a un elemento potenciador de DNA que responde a cAMP (CRE, *cAMP responsive DNA enhancer element*) (véase cuadro 42-1) en su estado no fosforilado, es un activador débil de la transcripción. Sin embargo, cuando se fosforila por PKA en los aminoácidos clave, CREB se une al coactivador de la proteína de unión a CREB CBP/p300 (véase a continuación) y, como resultado, es un activador transcripcional mucho más potente. CBP y el p300 relacionado contienen actividades de histona acetiltransferasa (HATs, *histone acetyltransferase activities*) y, por tanto, sirven como correguladores transcripcionales activos de cromatina (véanse los capítulos 36 y 38). Curiosamente, CBP/p300 también puede acetilar ciertos factores de transcripción, estimulando así su capacidad de unirse al DNA y modular la transcripción.

Fosfodiesterasas

Las acciones causadas por las hormonas que aumentan la concentración de cAMP pueden terminarse de varias maneras, incluida la hidrólisis de cAMP a 5′-AMP por fosfodiesterasas (véase figura 42-5). La presencia de estas enzimas hidrolíticas asegura un rápido cambio de la señal (cAMP) y, por tanto, una terminación rápida del proceso biológico una vez que se elimina el estímulo hormonal. Hay al menos 11 miembros conocidos de la familia de enzimas fosfodiesterasas. Estos se encuentran sujetos a la regulación por sus sustratos, cAMP y cGMP; por hormonas; y por mensajeros intracelulares como el calcio, probablemente actuando a través de la calmodulina. Los inhibidores de la fosfodiesterasa, en particular los derivados de xantina metilados como la cafeína, aumentan el cAMP intracelular e imitan o prolongan las acciones de las hormonas a través de esta señal.

Fosfoproteína fosfatasas

Dada la importancia de la fosforilación de proteínas, no es sorprendente que la regulación de la reacción de defosforilación de proteínas sea otro mecanismo de control importante (véase figura 42-5). Las fosfoproteínas fosfatasas están sujetas a regulación por reacciones de fosforilación-desfosforilación y por una variedad de otros mecanismos, tales como las interacciones proteína-proteína. De hecho, la especificidad de sustrato de la fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas puede estar dictada por distintas subunidades reguladoras cuya unión está regulada hormonalmente. Uno de los papeles mejor estudiados de la regulación mediante la defosforilación de las proteínas es el del metabolismo del glucógeno en el músculo (véanse figuras 18-6 a 18-8). Se han descrito dos tipos principales de fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas. El tipo I defosforila preferentemente la subunidad β de la fosforilasa quinasa, mientras que el tipo II defosforila la subunidad α. La fosfatasa tipo I está implicada en la regulación de la glucógeno sintasa, la fosforilasa y la fosfo-

rilasa quinasa. Esta fosfatasa está regulada por la fosforilación de algunas de sus subunidades, y estas reacciones se revierten por la acción de una de las fosfatasas tipo II. Además, dos inhibidores de proteína termoestables regulan la actividad de fosfatasa de tipo I. El inhibidor-1 está fosforilado y activado por las proteínas quinasas dependientes de cAMP, y el inhibidor-2, que puede ser una subunidad de la fosfatasa inactiva, y también está fosforilado, posiblemente por la glucógeno sintasa quinasa-3. Las fosfatasas que se dirigen a la fosfotirosina también son importantes en la transducción de señales (véase figura 42-8).

cGMP es también una señal intracelular

El GMP cíclico está hecho de GTP por la enzima guanilil ciclasa, que existe en formas solubles y unidas a la membrana. Cada una de estas formas de enzimas tiene propiedades fisiológicas únicas. Las atriopeptinas, una familia de péptidos producidos en tejidos auriculares cardiacos, causan natriuresis, diuresis, vasodilatación e inhibición de la secreción de aldosterona. Estos péptidos (p. ej., factor natriurético auricular) se unen y activan la forma de guanilil ciclasa unida a la membrana. Esto da como resultado un aumento de cGMP hasta 50 veces en algunos casos, y se cree que esto media los efectos mencionados anteriormente. Otra evidencia vincula a cGMP con la vasodilatación. Una serie de compuestos, incluyendo nitroprusiato, nitroglicerina, óxido nítrico, nitrito de sodio y azida sódica, todos causan la relajación del músculo liso y son potentes vasodilatadores. Estos agentes aumentan el cGMP al activar la forma soluble de la guanilil ciclasa, y los inhibidores de la cGMP fosfodiesterasa (por ejemplo, el fármaco sildenafil [Viagra]) potencian y prolongan estas respuestas. El cGMP incrementado activa la proteína quinasa dependiente de cGMP (PKG), que a su vez fosforila varias proteínas del músculo liso. Presumiblemente, esto está involucrado en la relajación del músculo liso y la vasodilatación.

Varias hormonas actúan a través del calcio o fosfatidilinositol

El calcio ionizado, Ca^{2+}, es un importante regulador de una variedad de procesos celulares, que incluyen la contracción muscular, el acoplamiento estímulo-secreción, la cascada de coagulación de la sangre, la actividad enzimática y la excitabilidad de la membrana. El Ca^{2+} también es un mensajero intracelular de la acción de la hormona.

Metabolismo del calcio

La concentración extracelular de Ca^{2+} es ~5 mmol/L y está muy rígidamente controlada. Aunque se asocian cantidades sustanciales de calcio con los organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplasmático, la concentración intracelular de calcio libre o ionizado (Ca^{2+}) es muy baja: de 0,05 a 10 µmol/L. A pesar de este gran gradiente de concentración y un gradiente eléctrico transmembrana favorable, se impide que el Ca^{2+} ingrese a la célula. Se gasta una cantidad considerable de energía para asegurar que el Ca^{2+} intracelular esté controlado, ya que una elevación prolongada de Ca^{2+} en la célula es muy tóxica. Un mecanismo de intercambio Na^+/Ca^{2+} que tiene una alta capacidad, pero baja afinidad, bombea Ca^{2+} fuera de las células. También hay una bomba dependiente de Ca^{2+}/protón ATPasa que extruye Ca^{2+} a cambio de H^+. Esto tiene una gran afinidad por el Ca^{2+}, pero una baja capacidad y es probablemente responsable del ajuste fino del Ca^{2+} citosólico. Además, el Ca^{2+}-ATPasas bombean Ca^{2+} del citosol al lumen del retículo endoplasmático. Hay tres formas de cambiar los niveles de Ca^{2+} citosólico: 1) Ciertas hormonas (clase II.C, cuadro 41-3) uniéndose a receptores que son en sí mismos canales de Ca^{2+}, mejorando la permeabilidad de la membrana al Ca^{2+} y, por tanto, aumentando la afluencia de Ca^{2+}. 2) Las hormonas también promueven indirectamente el influjo de Ca^{2+} al modular el potencial de membrana en la membrana plasmática. La despolarización de la membrana abre los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y permite la afluencia de Ca^{2+}. 3) El Ca^{2+} puede movilizarse desde el retículo endoplasmático y posiblemente desde grupos mitocondriales.

Una observación importante que relaciona el Ca^{2+} con la acción de la hormona involucró la definición de los objetivos intracelulares de la acción de Ca^{2+}. El descubrimiento de un regulador dependiente de Ca^{2+} de la actividad de la fosfodiesterasa proporcionó la base para una comprensión amplia de cómo el Ca^{2+} y el cAMP interactúan dentro de las células.

Calmodulina

La proteína reguladora dependiente de calcio es la calmodulina, una proteína de 17 kDa que es homóloga a la proteína troponina C muscular en estructura y función. La calmodulina tiene cuatro sitios de unión a $Ca2^+$, y la ocupación total de estos sitios conduce a un marcado cambio conformacional, que permite a la calmodulina activar enzimas y canales iónicos. La interacción de Ca^{2+} con calmodulina (con el cambio de actividad resultante de esta última) es conceptualmente similar a la unión de cAMP a PKA y la posterior activación de esta molécula. La calmodulina puede ser una de las numerosas subunidades de proteínas complejas y participa particularmente en la regulación de diversas quinasas y enzimas de la generación y degradación de nucleótidos cíclicos. En el cuadro 42-4 se presenta una lista parcial de las enzimas reguladas directa o indirectamente por Ca^{2+}, probablemente a través de la calmodulina.

Además de sus efectos sobre las enzimas y el transporte de iones, Ca^{2+}/calmodulina regula la actividad de muchos elementos estructurales en las células. Estos incluyen el complejo actina-miosina del músculo liso, que está bajo control β-adrenérgico, y diversos procesos mediados por microfilamentos en células no contráctiles, que incluyen la motilidad celular, cambios en la conformación celular, mitosis, liberación de gránulos y endocitosis.

CUADRO 42-4 Algunas enzimas y proteínas reguladas por calcio o calmodulina

- Adenilil ciclasa
- Proteína quinasa dependiente de Ca^{2+}
- Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPasa
- Proteína quinasa dependiente de fosfolípidos de Ca^{2+}
- Fosfodiesterasa de nucleótido cíclico
- Algunas proteínas del citoesqueleto
- Algunos canales iónicos (p. ej., canales de calcio tipo l)
- Óxido nítrico sintasa
- Fosforilasa quinasa
- Fosfoproteína fosfatasa 2B
- Algunos receptores (p. ej., receptor de glutamato tipo NMDA)

Abreviaturas: Receptor NDMA, N-metil-D-aspartato (*N-methyl-d-aspartate receptor*).

El calcio es un mediador de la acción hormonal

Un papel para el Ca^{2+} en la acción de la hormona es sugerido por las observaciones de que el efecto de muchas hormonas es 1) embotado por los medios libres de Ca^{2+} o cuando se agota el calcio intracelular; 2) puede mimetizarse con agentes que aumentan el Ca^{2+} citosólico, como el ionóforo Ca^{2+} A23187; y 3) influye en el flujo de calcio celular. De nuevo, la regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado (por vasopresina y catecolaminas β-adrenérgicas; véanse las figuras 18-6 y 18-7).

Varias enzimas metabólicas críticas están reguladas por Ca^{2+}, fosforilación o ambas. Estas incluyen glucógeno sintasa, piruvato quinasa, piruvato carboxilasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y piruvato deshidrogenasa, entre otras (véase figura 19-1).

El metabolismo de la fosfatidilinosítida afecta la acción de la hormona dependiente de Ca^{2+}

Alguna señal debe proporcionar comunicación entre el receptor de la hormona en la membrana plasmática y los reservorios intracelulares de Ca^{2+}. Esto se logra por productos del metabolismo de fosfatidilinositol. Los receptores de superficie celular, como los de la acetilcolina, la hormona antidiurética y las catecolaminas de tipo α_1, cuando están ocupados por sus respectivos ligandos, son potentes activadores de la fosfolipasa C. La unión del receptor y la activación de la fosfolipasa C están acopladas por las isoformas G_q (cuadro 42-3 y figura 42-6). La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato a inositol trifosfato (IP_3) y 1,2-diacilglicerol (figura 42-7). El diacilglicerol (DAG) en sí mismo es capaz de activar la proteína quinasa C (PKC), cuya actividad también depende del Ca^{2+} (véase capítulo 21 y figuras, 24-1, 24-2 y 55-1). El IP_3, al interactuar con un receptor intracelular específico, es un liberador eficaz de Ca^{2+} a partir de sitios de almacenamiento intracelular en el retículo endoplasmático. Por tanto, la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato conduce a la activación de PKC y promueve un aumento de Ca^{2+} citoplásmico. Como se muestra en la figura 42-4, la activación de las proteínas G también puede tener una acción directa sobre los canales de Ca^{2+}. Las elevaciones resultantes de Ca^{2+} citosólico activan las quinasas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina y muchas otras enzimas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina.

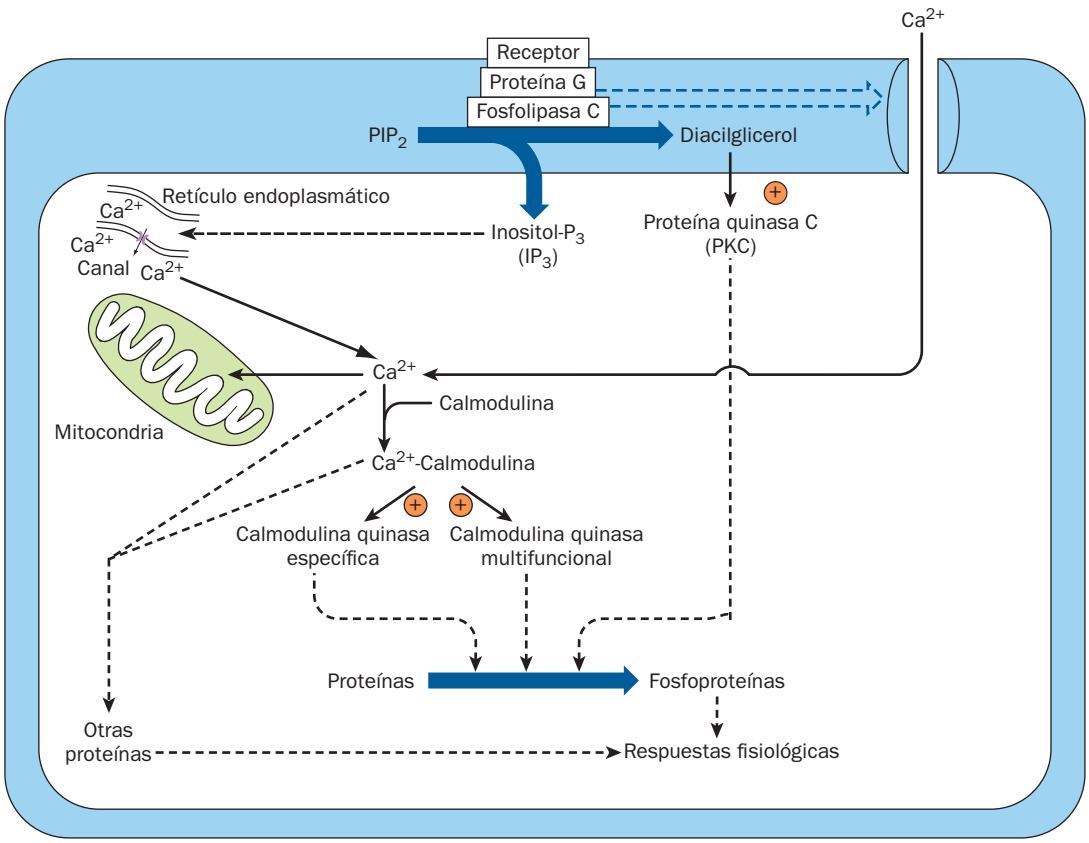


FIGURA 42-6 Ciertas interacciones hormona-receptor resultan en la activación de la fosfolipasa C (PLC, *phospholipase C*). La activación de PLC parece implicar una proteína G específica, que también puede activar un canal de calcio. La fosfolipasa C genera inositol trifosfato (IP_3, *inositol trisphosphate*) de PIP_2 (fosfoinositol 4,5-bisfosfato, véase figura 42-7), que libera Ca^{2+} intracelular almacenado y diacilglicerol (DAG, *diacylglycerol*), un potente activador de la proteína quinasa C (PKC). En este esquema, la PKC activada fosforila sustratos específicos, que luego alteran los procesos fisiológicos. Del mismo modo, el complejo Ca^{2+}-calmodulina puede activar quinasas específicas, dos de las cuales se muestran aquí. Estas acciones dan como resultado la fosforilación de los sustratos, y esto conduce a respuestas fisiológicas alteradas. Esta figura también muestra que Ca^{2+} puede ingresar en las células a través de canales de Ca^{2+} regulados por voltaje o ligando. El Ca^{2+} intracelular también se regula mediante el almacenamiento y la liberación por la mitocondria y el retículo endoplasmático. (Reproducido con permiso de JH Exton).

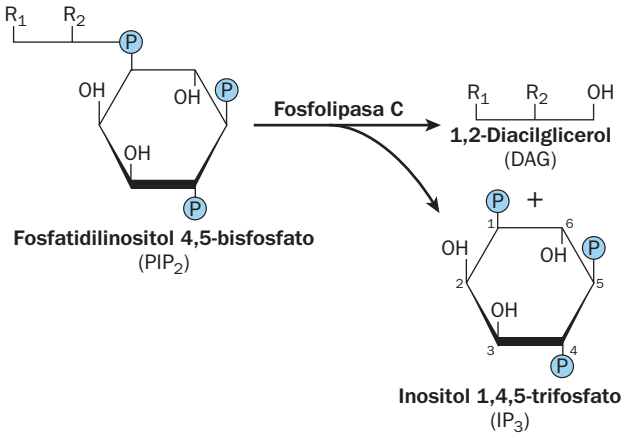


FIGURA 42-7 La fosfolipasa C escinde PIP_2 en diacilglicerol e inositol trifosfato. R_1 generalmente es estearato, y R_2 es usualmente araquidonato. IP_3 puede desfosforilarse (a I-1,4-P_2 inactivo) o fosforilarse (a I-1,3,4,5-P_4 potencialmente activo).

Los agentes esteroidogénicos, que incluyen ACTH y cAMP en la corteza suprarrenal; angiotensina II, K^+, serotonina, ACTH y cAMP en la zona glomerular de la glándula suprarrenal; LH en el ovario; y LH y cAMP en las células de Leydig de los testículos, se han asociado con mayores cantidades de ácido fosfatídico, fosfatidilinositol y polifosfoinosítidos (ver capítulo 21) en los respectivos tejidos blanco. Varios otros ejemplos podrían ser citados.

En la figura 42-6 se presentan los roles que los productos de ruptura de Ca^{2+} y polifosfoinosítidos podrían tener en la acción de las hormonas. En este esquema, la proteína quinasa C activada puede fosforilar sustratos específicos, que luego alteran los procesos fisiológicos. Del mismo modo, el complejo Ca^{2+}-calmodulina puede activar quinasas específicas. Estas después modifican los sustratos y, por tanto, alteran las respuestas fisiológicas.

Algunas hormonas actúan a través de una cascada de proteína quinasa

Las proteínas quinasas únicas, como PKA, PKC y Ca^{2+}-calmodulina (CaM, *calmodulin*) quinasas, que dan como resultado la fosforilación de residuos de serina y treonina en proteínas blanco, juegan un papel muy importante en la acción de la hormona. El descubrimiento de que el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*) contiene una actividad de tirosina quinasa intrínseca que se activa mediante la unión del ligando EGF fue un avance importante. Los receptores de insulina y el factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1, *insulin like growth factor 1*) también contienen actividad de tirosina quinasa activada por ligando intrínseco. Varios receptores, generalmente los que participan en ligandos de unión implicados en el control del crecimiento, la diferenciación y la respuesta inflamatoria, tienen actividad de tirosina quinasa intrínseca o están estrechamente asociados con proteínas que son tirosina quinasas. Otra característica distintiva de esta clase de acción hormonal es que estas quinasas preferentemente fosforilan residuos de tirosina, y la fosforilación de la tirosina es infrecuente (<0.03% de la fosforilación total de aminoácidos) en las células de mamíferos. Una tercera característica distintiva es que la interacción ligando-receptor que da como resultado un evento de fosforilación de la tirosina inicia una cascada que puede implicar varias proteínas quinasas, fosfatasas y otras proteínas reguladoras.

La insulina transmite señales por varias cascadas de quinasa

Los receptores de insulina, EGF e IGF-1 tienen actividades intrínsecas de proteína tirosina quinasa localizadas en sus dominios citoplásmicos. Estas actividades se estimulan cuando sus ligandos se unen al receptor afín. Los receptores se autofosforilan en residuos de tirosina, y esta fosforilación inicia una compleja serie de eventos (resumidos de manera simplificada en la figura 42-8). El receptor de insulina fosforilada luego fosforila los sustratos receptores de insulina (hay al menos cuatro de estas moléculas, llamadas IRS 1-4) en los residuos de tirosina. El IRS fosforilado se une a los dominios de homología Src 2 (SH2) de una variedad de proteínas que están directamente implicadas en la mediación de diferentes efectos de la insulina. Una de estas proteínas, la PI-3 quinasa, vincula la activación del receptor de insulina a la acción de la insulina a través de la activación de varias moléculas, incluida la quinasa 1 dependiente de fosfoinosítido de quinasa (PDK1, *kinase phosphoinositide-dependent kinase 1*). Esta enzima propaga la señal a través de varias otras quinasas, incluidas PKB (también conocida como AKT), SKG y aPKC (consulte la leyenda de la figura 42-8 para ver definiciones y abreviaturas ampliadas). Una vía alternativa corriente abajo de PDK1 implica p70S6K y quizás otras quinasas aún no identificadas. Una segunda vía importante implica mTOR. Esta enzima está directamente regulada por los niveles de aminoácidos y la insulina, y es esencial para la actividad de p70S6K. El sistema de señalización mTOR proporciona una distinción entre las ramas PKB y p70S6K corriente abajo de PKD1. Estas vías están involucradas en la translocación de proteínas, la activación enzimática y la regulación, por insulina, de genes implicados en el metabolismo (figura 42-8). Otra proteína que contiene el dominio SH2 es GRB2, que se une a IRS-1 y liga la fosforilación de tirosina a varias proteínas, cuyo resultado es la activación de una cascada de treonina y serina quinasas. En la figura 42-8 se ilustra una vía que muestra cómo esta interacción insulina-receptor activa la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) y los efectos anabólicos de la insulina. Los papeles exactos de muchas de estas proteínas de acoplamiento, quinasas y fosfatasas se están estudiando activamente.

La vía Jak-Stat es utilizada por las hormonas y las citocinas

La activación de la tirosina quinasa también puede iniciar una cascada de fosforilación y desfosforilación que involucra la acción de varias otras proteínas quinasas y las acciones de equilibrio de las fosfatasas. Se utilizan dos mecanismos para iniciar esta cascada. Algunas hormonas, como la hormona del crecimiento, la prolactina, la eritropoyetina y las citocinas, inician su acción activando una tirosina quinasa, pero esta actividad no es una parte integral del receptor de la hormona. La interacción hormona-receptor promueve la unión y la activación de proteínas citoplásmicas tirosina quinasas, tales como JAK1, o JAK2 o TYK.

Estas quinasas fosforilan una o más proteínas citoplásmicas, que luego se asocian con otras proteínas de acoplamiento a través de la unión a los dominios SH2. Una de estas interacciones resulta

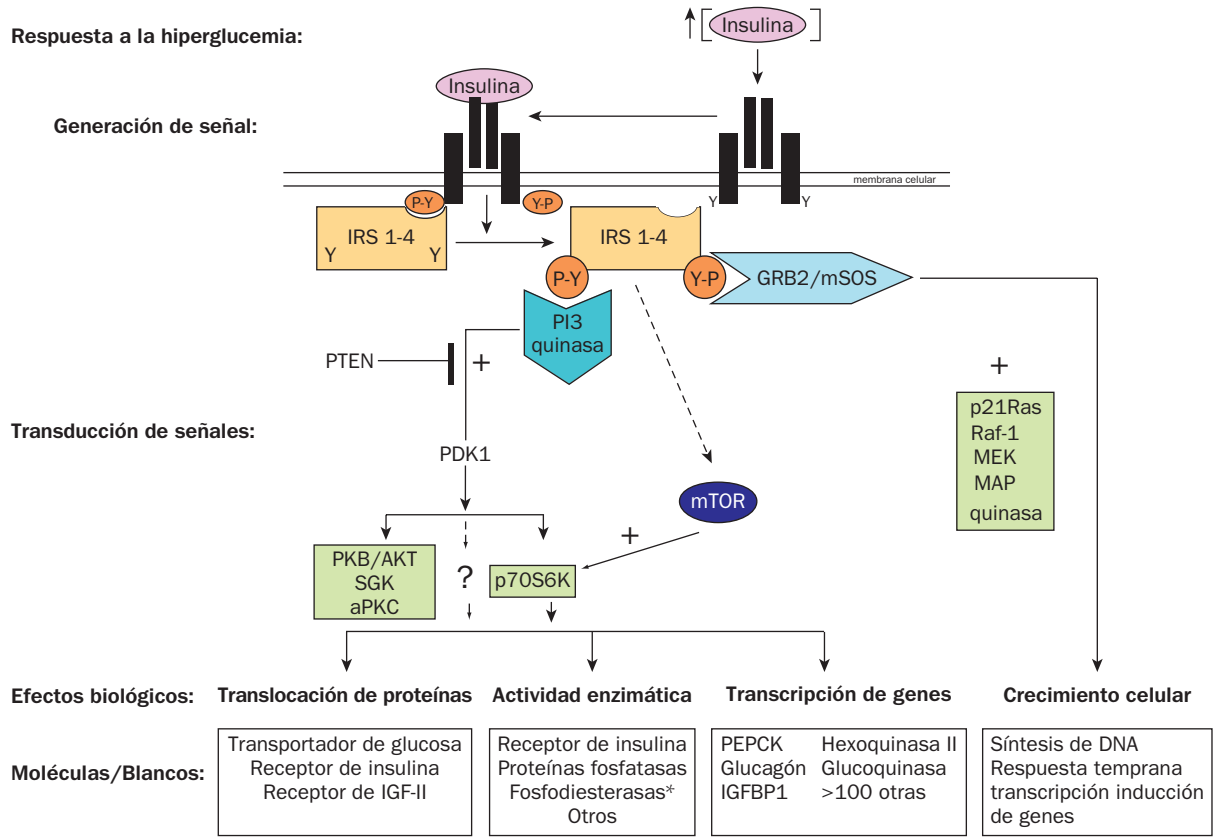


FIGURA 42-8 Vías de señalización de la insulina. Las vías de señalización de la insulina proporcionan un excelente ejemplo del paradigma "reconocimiento → liberación de hormona → generación de señal → efectos" descrito en la figura 42-1. La insulina se libera en el torrente sanguíneo a partir de las células β pancreáticas en respuesta a la hiperglucemia. La unión de la insulina a un receptor de insulina heterotetramérica (IR, *insulin receptor) de la membrana plasmática específica de la célula blanco da como resultado una cascada de eventos intracelulares. En primer lugar, la actividad intrínseca de la tirosina quinasa del receptor de la insulina se activa y marca el evento inicial. La activación del receptor da como resultado un aumento de la fosforilación de la tirosina (conversión de residuos Y específicos → Y-P) dentro del receptor. Una o más de las moléculas del sustrato receptor de insulina (IRS, insulin receptor substrate*) (IRS 1-4) se unen al receptor tirosina fosforilado y ellas mismas son específicamente fosforiladas con tirosina. Las proteínas IRS interactúan con el IR activado a través de los dominios N-terminal PH (homología de pleckstrin) y unión a fosfotirosina (PTB, *phosphotyrosine binding*). Las proteínas IRS acopladas a IR son fosforiladas con tirosina y los residuos P-Y resultantes forman los sitios de acoplamiento para varias proteínas de señalización adicionales (es decir, PI-3 quinasa, GRB2 y mTOR). GRB2 y PI-3K se unen a residuos de IRS PY a través de sus dominios SH (homología de Src), la unión a residuos de IRS-YP conduce a la activación de la actividad de muchas moléculas de señalización intracelular como GTPasas, proteína quinasas y lípidos quinasas, todas las cuales desempeñan papeles clave en ciertas acciones metabólicas de la insulina. Se muestran las dos vías mejor descritas. En detalle, la fosforilación de una molécula de IRS (probablemente IRS-2) da como resultado el acoplamiento y la activación de la quinasa lipídica, PI-3 quinasa; PI-3K genera nuevos lípidos de inositol que actúan como moléculas de "segundo mensajero". Estos, a su vez, activan PDK1 y luego una variedad de moléculas de señalización corriente abajo, incluyendo la proteína quinasa B (PKB/AKT), SGK y aPKC. Una vía alternativa implica la activación de p70S6K y quizás otras quinasas aún no identificadas. A continuación, la fosforilación de IRS (probablemente IRS-1) da como resultado el acoplamiento de GRB2/mSOS y la activación de la pequeña GTPasa, p21Ras, que inicia una cascada de proteína quinasa que activa Raf-1, MEK y las isoformas de p72/p44 MAP quinasa. Estas proteínas quinasas son importantes en la regulación de la proliferación y diferenciación de muchos tipos de células. La ruta de mTOR proporciona una forma alternativa de activar p70S6K y está involucrada en la señalización de nutrientes y la acción de la insulina. Cada una de estas cascadas puede influir en diferentes procesos biológicos, como se muestra (translocación de proteínas, actividad de proteínas/enzimas, transcripción de genes, crecimiento celular). Todos los eventos de fosforilación son reversibles a través de la acción de fosfatasas específicas. Como ejemplo, la lípido fosfatasa PTEN desfosforila el producto de la reacción de PI-3 quinasa, antagonizando así la ruta y terminando la señal. Los efectos representativos de las principales acciones de la insulina se muestran en cada una de las casillas (abajo). El asterisco después de la fosfodiesterasa indica que la insulina afecta indirectamente la actividad de muchas enzimas activando las fosfodiesterasas y reduciendo los niveles intracelulares de cAMP. aPKC, proteína quinasa atípica C; GRB2, proteína de unión al receptor del factor de crecimiento 2; IGFBP, proteína de unión al factor de crecimiento insulínico; IRS 1-4, isoformas del sustrato receptor de insulina; MAP quinasa, proteína quinasa activada por mitógeno; MEK , MAP quinasa y ERK quinasa; mSOS, el set de genes *son of sevenless* de mamíferos; mTOR, mamífero objetivo de la rapamicina; p70S6K, p70 ribosomal proteína S6 quinasa; PDK1, quinasa dependiente de fosfoinosítido; PI-3 quinasa, fosfatidilinositol 3-quinasa; PKB, proteína quinasa B; PTEN, homólogo de fosfatasa y tensina eliminado en el cromosoma 10; SGK, quinasa regulada por suero y glucocorticoides.

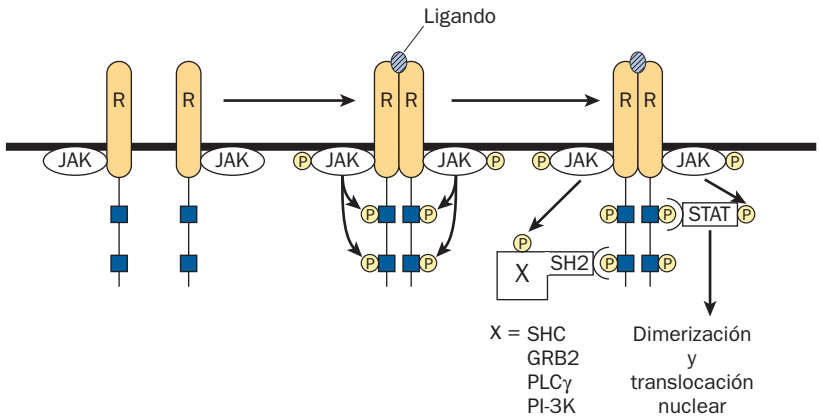


FIGURA 42-9 **Inicio de la transducción de señal por los receptores unidos a Jak quinasas.** Los receptores (R) que se unen a la prolactina, la hormona del crecimiento, los interferones y las citoquinas carecen de tirosina quinasa endógena. Tras la unión del ligando, estos receptores se dimerizan y una proteína quinasa asociada, aunque inactiva (JAK1, JAK2 o TYK) se fosforila. Fosfo-JAK ahora está activada, y procede a fosforilar el receptor en residuos de tirosina. Las proteínas STAT se asocian con el receptor fosforilado y luego son ellas mismas fosforiladas por JAK-P. La proteína STAT fosforilada, STAT se dimeriza, se transloca al núcleo, se une a elementos específicos del DNA y regula la transcripción. Los residuos de fosfotirosina del receptor también se unen a varias proteínas que contienen el dominio SH2 (X-SH2), que dan como resultado la activación de la vía MAP quinasa (a través de SHC o GRB2), PLCγ o PI-3 quinasa.

en la activación de una familia de proteínas citosólicas llamadas STAT, o transductores de señales y activadores de la transcripción. La proteína STAT fosforilada se dimeriza y se transloca en el núcleo, se une a un elemento de DNA específico como el elemento de respuesta al interferón (IRE, *interferon response element*) y activa la transcripción. Esto se ilustra en la figura 42-9. Otros eventos de acoplamiento a SH2 pueden dar como resultado la activación de la PI-3 quinasa, la ruta MAP quinasa (a través de SHC o GRB2) o la activación de la fosfolipasa C (PLCγ), mediada por proteína G con la producción concomitante de diacilglicerol y activación de proteína

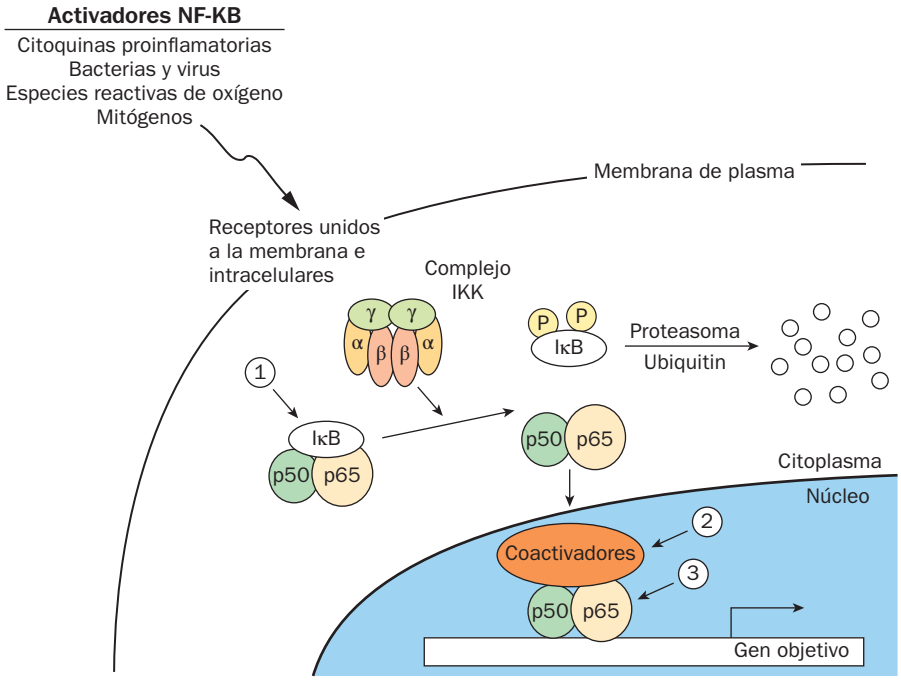


FIGURA 42-10 **Regulación de la ruta NF-κβ.** NF-κβ consta de dos subunidades, p50 y p65, que cuando están presentes en el núcleo regulan la transcripción de la multitud de genes importantes para la respuesta inflamatoria. NF-κB tiene restricción para ingresar al núcleo por IκB, un inhibidor de NF-κB. IκB se une a, y enmascara, la señal de localización nuclear de NF-κB. Esta proteína citoplasmática se fosforila mediante un complejo IKK que se activa mediante citoquinas, especies de oxígeno reactivas y mitógenos. El IκB fosforilado se puede ubiquitarizar y degradar, liberando así su retención sobre NF-κB y permitiendo la translocación nuclear. Se cree que los glucocorticoides, potentes agentes antiinflamatorios, afectan al menos tres pasos en este proceso (1, 2, 3), como se describe en el texto.

quinasa C. Es evidente que existe un potencial de "interferencia" cuando diferentes hormonas activan estas diversas vías de transducción de señales.

El camino NF-κ B está regulado por glucocorticoides

El factor de transcripción de unión a DNA NF-κB es un complejo heterodimérico compuesto típicamente de dos subunidades denominadas p50 y p65 (figura 42-10). Normalmente, el NF-κβ es secuestrado en el citoplasma en una forma transcripcionalmente inactiva por miembros de la familia de proteínas IκB (inhibidor de NF-κβ). Los estímulos extracelulares, como las citocinas proinflamatorias, las especies reactivas de oxígeno y los mitógenos, conducen a la activación del complejo IKK (IκB quinasa), que es una estructura heterohexámerica que consiste en las subunidades α, β y γ. IKK fosforila IκB en dos residuos de serina. Esta fosforilación se dirige a IκB para la poliubiquitilación y posterior degradación por el proteasoma. Después de la degradación de IκB, el NF-κB libre se transloca al núcleo, donde se une a una serie de potenciadores genéticos y activa la transcripción, particularmente de los genes implicados en la respuesta inflamatoria. La regulación transcripcional por NF-κB está mediada por una variedad de coactivadores tales como la proteína de unión a CREB (CBP, *CREB-binding protein*), como se describe a continuación (figura 42-13).

Las hormonas glucocorticoides son agentes terapéuticamente útiles para el tratamiento de una variedad de enfermedades inflamatorias e inmunes. Sus acciones antiinflamatorias e inmunomoduladoras se explican en parte por la inhibición de NF-κB y sus acciones posteriores. Se ha descrito la evidencia de tres mecanismos para la inhibición de NF-κB por los glucocorticoides: 1) Los glucocorticoides aumentan el mRNA de IκB, lo que conduce a un aumento de la proteína IκB y a un secuestro más eficiente de NF-κB en el citoplasma. 2) El receptor de glucocorticoides compite con NF-κB por la unión a coactivadores. 3) El receptor de glucocorticoides se une directamente a la subunidad p65 de NF-κB e inhibe su activación (figura 42-10).

LAS HORMONAS PUEDEN INFLUIR EN EFECTOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS MEDIANTE LA TRANSCRIPCIÓN MODULADORA

Las señales generadas como se describió anteriormente deben traducirse en una acción que permita a la célula adaptarse efectivamente a un desafío (figura 42-1). Gran parte de esta adaptación se logra a través de alteraciones en las tasas de transcripción de genes específicos. Muchas observaciones diferentes han llevado a la visión actual de cómo las hormonas afectan la transcripción. Algunos de estos son los siguientes: 1) los genes activamente transcritos se encuentran en regiones de cromatina "abierta" (definida experimentalmente como susceptibilidad relativa a la enzima DNasa I, y que contiene ciertas histonas PTM o "marcas"), lo que permite el acceso de factores de transcripción para el DNA. 2) Los genes tienen regiones reguladoras, y los factores de transcripción se unen a estos para modular la frecuencia de iniciación de la transcripción. 3) El complejo hormona-receptor puede ser uno de estos factores de transcripción. La secuencia de DNA a la que se unen los receptores se denomina HRE (consulte el cuadro 42-1 para ver ejemplos). 4) Alternativamente, otras señales generadas por hormonas pueden modificar la ubicación, cantidad o actividad de los factores de transcripción y, por tanto, influir en la unión al elemento regulador o de respuesta. 5) Los miembros de una gran superfamilia de receptores nucleares actúan con, o de manera análoga a, los receptores de hormonas descritos anteriormente. 6) Estos receptores nucleares interactúan con otro gran grupo de moléculas correguladoras para efectuar cambios en la transcripción de genes específicos.

Varios HRE se han definido

Los HRE se parecen a los elementos potenciadores en el sentido de que no dependen estrictamente de la posición, ubicación u orientación. Generalmente se encuentran dentro de unos cientos de nucleótidos corriente arriba (5′) del sitio de inicio de la transcripción, pero pueden estar localizados dentro de la región codificante del gen, en intrones. Los HRE fueron definidos por la estrategia ilustrada en la figura 38-11. Las secuencias de consenso ilustradas en el cuadro 42-1 se obtuvieron mediante el análisis de muchos genes regulados por una hormona dada, utilizando sistemas reporteros heterólogos simples (véase la figura 38-10). Aunque estos HRE simples se unen al complejo hormona-receptor más ávidamente que el DNA circundante —o DNA de una fuente no relacionada— y confieren capacidad de respuesta hormonal a un gen informador, pronto se hizo evidente que el circuito regulador de los genes naturales debe ser mucho más complicado. Los glucocorticoides, las progestinas, los mineralocorticoides y los andrógenos tienen acciones fisiológicas muy diferentes. ¿Cómo podría lograrse la especificidad requerida para estos efectos a través de la regulación de la expresión genética por los mismos HRE (cuadro 42-1)? Preguntas como esta han llevado a experimentos que han permitido la elaboración de un modelo más complejo de regulación de la transcripción por la familia de proteínas receptoras de hormonas esteroides. Por ejemplo, en la gran mayoría de los genes celulares, los HRE se encuentran asociados con otros elementos de DNA reguladores específicos (y proteínas de unión asociadas); estas asociaciones son obligatorias para una función óptima. La extensa similitud de secuencia observada entre los receptores de hormonas esteroideas, particularmente en sus dominios de unión al DNA (DBD, *DNA-binding domains*), condujo al descubrimiento de la superfamilia de proteínas del receptor nuclear. Estos —y un gran número de proteínas correguladoras— permiten una amplia variedad de interacciones DNA-proteína y proteína-proteína y la especificidad necesaria para un control fisiológico altamente regulado. Un esquema de tal ensamblaje se ilustra en la figura 42-11.

Hay una gran familia de proteínas del receptor nuclear

La superfamilia del receptor nuclear consiste en un conjunto diverso de factores de transcripción que se descubrieron debido a una similitud de secuencia en sus DBD. Esta familia, ahora con >50 miembros, incluye los receptores de hormonas nucleares discutidos anteriormente, otros receptores cuyos ligandos se descubrieron después de que se identificaron los receptores, y muchos receptores putativos o huérfanos para los cuales todavía no se ha descubierto un ligando.

Estos receptores nucleares tienen varias características estructurales comunes (figura 42-12). Todos tienen un DBD ubicado en el centro que permite al receptor unirse con alta afinidad a su HRE afín. El DBD contiene dos motivos de unión con dedos de zinc (véase la figura 38-14) que se unen directamente como homodíme-

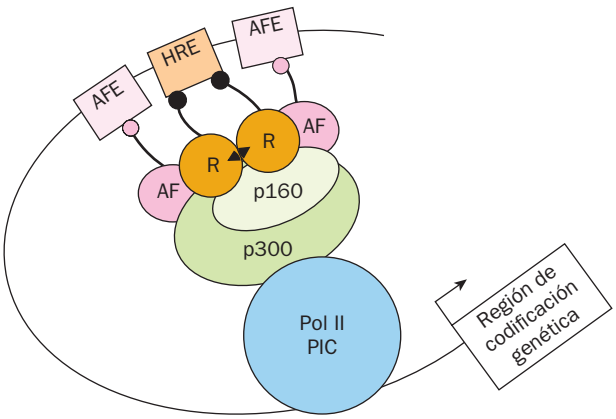
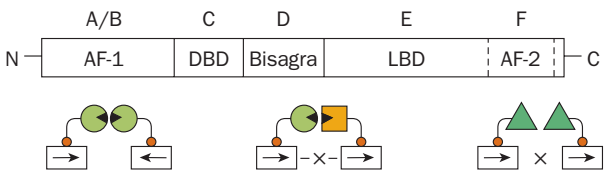


FIGURA 42-11 La unidad de activación transcripcional de la respuesta hormonal. La unidad de transcripción de la respuesta hormonal es un conjunto de elementos de DNA y proteínas complementarias, unidas al DNA, que interactúan, a través de interacciones proteína-proteína, con varias moléculas coactivadoras o correpresoras. Un componente esencial es el elemento de respuesta hormonal que está unido por el receptor ( ) ligado al ligando (R). También son importantes los elementos de factores accesorios (AFEs, *accessory factor elements*) con factores de transcripción vinculados. Más de dos docenas de estos factores accesorios (AF), que a menudo son miembros de la superfamilia de receptores nucleares, se han relacionado con los efectos hormonales en la transcripción. Los AF pueden interactuar entre sí, con los receptores nucleares ligados, o con correguladores. Estos componentes se comunican con la maquinaria de transcripción basal, formando el PIC de polimerasa II (es decir, RNAP II y GTF, figura 36-10) a través de un complejo corregulador que puede consistir en uno o más miembros del p160, correpresor, relacionado con el mediador o familias CBP/p300 (véase cuadro 42-6). Recuerde (véanse capítulos 36 y 38) que muchos de los correguladores de la transcripción llevan a cabo actividades enzimáticas intrínsecas que modifican covalentemente el DNA, las proteínas de transcripción y las histonas presentes en los nucleosomas (no se muestran aquí) en el potenciador (HRE, AFE) y promotor. En conjunto, la hormona, el receptor de hormonas, la cromatina, el DNA y la maquinaria de transcripción integran y procesan señales hormonales para regular la transcripción de forma fisiológica.

ros, como heterodímeros (generalmente con un receptor de retinoide X [RXR, *retinoid X receptor*]) o como monómeros. El elemento de respuesta de destino consiste en una o dos secuencias de consenso de medio sitio de DNA dispuestas como una repetición invertida o directa. El espaciado entre estos últimos ayuda a determinar la especificidad de unión. Por tanto, en general, una repetición directa con tres, cuatro o cinco regiones espaciadoras de nucleótidos especifica la unión de los receptores de vitamina D, tiroides y ácido retinoico, respectivamente, al mismo elemento de respuesta de consenso (cuadro 42-1). Un dominio de unión a ligando multifuncional (LBD, *ligand-binding domain*) se localiza en la mitad carboxilo terminal del receptor. El LBD une hormonas o metabolitos con selectividad y, por tanto, especifica una respuesta biológica particular. El LBD también contiene dominios que median la unión de proteínas de choque térmico, dimerización, localización nuclear y transactivación. Esta última función se ve facilitada por la función de activación de la transcripción carboxilo terminal, o dominio de activación/AD (dominio AF-2), que forma una superficie requerida para la interacción con coactivadores. Una región bisagra altamente variable separa el DBD del LBD. Esta región proporciona flexibilidad al receptor, por lo que puede asumir diferentes conformaciones de unión al DNA. Finalmente, hay una región amino terminal muy variable que contiene otra AD denominada AF-1. El AF-1 AD probablemente proporciona distintas funciones fisiológicas a través de la unión de diferentes proteínas correguladoras. Esta región del receptor, mediante el uso de diferentes promotores, sitios de corte y empalme alternativos y múltiples sitios de iniciación de la traducción, proporciona isoformas del receptor que comparten identidad DBD y LBD, pero que ejercen diferentes respuestas fisiológicas debido a la asociación de varios correguladores con esta variable amino terminal AF-1 AD.

Es posible ordenar esta gran cantidad de receptores en grupos de diversas maneras. Aquí se discuten de acuerdo con la forma en que se unen a sus respectivos elementos de DNA (figura 42-12).



	GR, MR, PR AR, ER	TR, RAR, VDR PPARα, β, γ FXR, CAR, LXR, PXR/SXR	COUP-TF, TR2, NUR77 HNF-4, TLX
Receptores:	Clase de esteroides	RXR asociado	Huérfanos
Unión:	Homodímeros	Heterodímeros	¿Homodímeros?
Ligando:	Esteroides	9-Cis RA + (x)	?
Elemento de DNA:	Repetición invertida	Repeticiones directas	Repeticiones directas

FIGURA 42-12 La superfamilia del receptor nuclear. Los miembros de esta familia se dividen en seis dominios estructurales (A-F). El dominio A/B también se llama AF-1, o la región del modulador, porque contiene un AD y está involucrado en la activación de la transcripción. El dominio C consiste en el dominio de unión al DNA (DBD). La región D contiene la bisagra, que proporciona flexibilidad entre el DBD y el dominio de unión al ligando (LBD, región E). La parte C-terminal de la región E contiene AF-2, otra AD que también contribuye de manera importante a la activación de la transcripción. La región F está menos definida. Las funciones de estos dominios se discuten con más detalle en el texto. Los receptores con ligandos conocidos, como las hormonas esteroides, se unen como homodímeros en los semisitios de repetición invertida. Otros receptores forman heterodímeros con el compañero RXR en elementos de repetición directa. Puede haber separadores de nucleótidos de una a cinco bases entre estas repeticiones directas (DR1-5, véase cuadro 42-1 para más detalles). Otra clase de receptores para los que los ligandos no se han determinado definitivamente (receptores huérfanos) se unen como homodímeros a las repeticiones directas y ocasionalmente como monómeros a un único sitio medio.

CUADRO 42-5 Receptores nucleares con ligandos[a] especiales

Receptor		Compañero	Ligando	Proceso afectado
Peroxisoma	$PPAR_{\alpha}$	RXR (DR1)	Ácidos grasos	Proliferación de peroxisomas
Proliferador activado	$PPAR_{\beta}$		Ácidos grasos	
	$PPAR_{\gamma}$		Ácidos grasos	Metabolismo de lípidos y carbohidratos
			Eicosanoides, tiazolidinedionas	
Farnesoid X	FXR	RXR (DR4)	Farnesol, ácidos biliares	Metabolismo del ácido biliar
Hígado X	LXR	RXR (DR4)	Oxisterols	Metabolismo del colesterol
Xenobiótico X	CAR	RXR (DR5)	Androstanos fenobarbital xenobióticos	Protección contra ciertos medicamentos, tóxicos, metabolitos y xenobióticos
	PXR	RXR (DR3)	Pregnanos	
			Xenobióticos	

[a] Muchos miembros de la superfamilia del receptor nuclear se descubrieron mediante clonación de "homología", y los ligandos correspondientes se identificaron posteriormente. Estos ligandos no son hormonas en el sentido clásico, pero tienen una función similar ya que activan miembros específicos de la superfamilia del receptor nuclear. Los receptores descritos aquí forman heterodímeros con RXR y tienen secuencias de nucleótidos variables que separan los elementos de unión de repetición directa (DR1-5). Estos receptores regulan una variedad de genes que codifican citocromo p450 (CYP), proteínas de unión citosólica y transportadores de casete de unión a ATP (ABC, *ATP-binding cassette*) para influir en el metabolismo y proteger las células contra fármacos y agentes nocivos.

Los receptores hormonales clásicos para glucocorticoides (GR), mineralocorticoides (MR), estrógenos (ER), andrógenos (AR) y progestinas (PR) se unen como homodímeros a secuencias de repetición invertidas. Otros receptores de hormonas como tiroides (TR), ácido retinoico (RAR) y vitamina D (VDR) y receptores que se unen a varios ligandos de metabolitos como PPAR α, β y γ, FXR, LXR, PXR y CAR se unen como heterodímeros, con RXR como pareja, para dirigir secuencias repetidas (consulte la figura 42-12 y el cuadro 42-5). Otro grupo de receptores huérfanos que aún no tienen un ligando conocido se unen como homodímeros o monómeros para dirigir secuencias repetidas.

Como se ilustra en el cuadro 42-5, el descubrimiento de la superfamilia de receptores nucleares ha llevado a una comprensión importante de cómo una variedad de metabolitos y xenobióticos regula la expresión genética y, por tanto, el metabolismo, la desintoxicación y la eliminación de productos corporales normales y agentes exógenos como productos farmacéuticos. No es sorprendente que esta área sea un campo fértil para la investigación de nuevas intervenciones terapéuticas.

Un gran número de correguladores de receptores nucleares también participan en la regulación de la transcripción

La remodelación de cromatina (modificación de histonas, metilación de DNA, reposicionamiento/remodelación/desplazamiento de nucleosomas) modifica el factor de transcripción por diversas actividades enzimáticas y la comunicación entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal mediante interacciones proteína-proteína con una o más de una clase de moléculas correguladoras. El número de estas moléculas correguladoras ahora

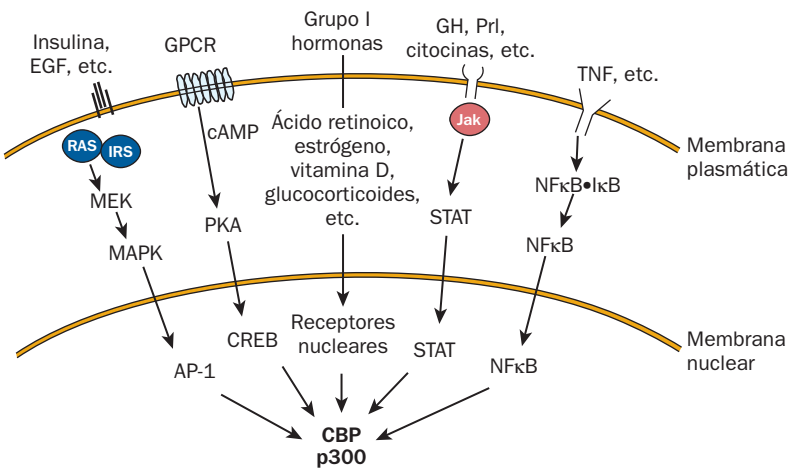


FIGURA 42-13 Varias vías de transducción de señal convergen en CBP/p300. Muchos ligandos que se asocian con receptores nucleares o de membrana finalmente convergen en CBP/p300. Se ilustran varias rutas de transducción de señales diferentes. (EGF, factor de crecimiento epidérmico, GH, hormona de crecimiento, Prl, prolactina, TNF, factor de necrosis tumoral, otras abreviaturas se amplían en el texto).

excede 100, sin contar las variaciones de especie y las variantes de empalme. La primera de ellas que se describió fue la proteína de unión a CREB, CBP. La CBP, a través de un dominio amino terminal, se une a la serina 137 fosforilada de CREB y media la transactivación en respuesta a cAMP. Por tanto, se describe como un coactivador. La CBP y su pariente cercano, p300, interactúan directa o indirectamente con varios factores de transcripción que se unen al DNA, como la proteína activadora 1 (AP-1), los STAT, los receptores nucleares y el CREB (figura 42-13). CBP/p300 también se une a la familia de coactivadores p160 descritos a continuación y a varias otras proteínas, incluidas la proteína quinasa $p90^{rsk}$ y la RNA helicasa A. Es importante observar, como se mencionó anteriormente, que CBP/p300 también tiene actividad intrínseca de histona acetiltransferasa (HAT). Algunas de las muchas acciones de CBP/p300, que parecen depender de las actividades enzimáticas intrínsecas y su capacidad para servir de andamio para la unión de otras proteínas, se ilustran en la figura 42-11. Otros correguladores cumplen funciones similares.

Se han descrito otras familias de moléculas coactivadoras. Los miembros de la familia de coactivadores p160, todos de aproximadamente 160 kDa, incluyen 1) SRC-1 y NCoA-1; 2) GRIP 1, TIF2 y NCoA-2; y 3) p/CIP, ACTR, AIB1, RAC3 y TRAM-1 (cuadro 42-6).

CUADRO 42-6 Algunas proteínas correguladoras de mamíferos

I. Familia de coactivadores de 300 kDa	
A. CBP	Proteína de unión CREB
B. p300	Proteína de 300 kDa
II. Familia de coactivadores de 160 kDa	
A. SRC-1,2,3	Coactivador del receptor de esteroides 1, 2 y 3
NCoA-1	Coactivador del receptor nuclear 1
B. TIF2	Factor intermediario transcripcional 2
GRIP1	Proteína que interactúa con el receptor de glucocorticoides
NCoA-2	Coactivador del receptor nuclear 2
C. p/CIP	Proteína asociada a cointegrador p300/CBP 1
ACTR	Activador de los receptores tiroideos y del ácido retinoico
AIB	Amplificado en cáncer de mama
RAC3	Coactivador asociado a receptor 3
TRAM-1	TR molécula activadora 1
III. Correpresores	
A. NCoR	Correpresor del receptor nuclear
B. SMRT	Silenciador mediador para RXR y TR
IV. Subunidades de mediadores	
A. TRAP	Proteínas asociadas al receptor de la hormona tiroidea
B. DRIP	Proteínas que interactúan con el receptor de vitamina D
C. ARC	Cofactor reclutado por el activador

Los diferentes nombres para miembros dentro de una subfamilia a menudo representan variaciones de especies o variantes menores de empalme. Hay aproximadamente 35% de identidad de aminoácidos entre los miembros de las diferentes subfamilias. Los coactivadores p160 comparten varias propiedades. Ellos 1) se unen a receptores nucleares de manera agonista y dependiente de AF-2, 2) tienen un motivo básico conservado de hélice-asa-hélice (bHLH) amino terminal (véase capítulo 38), 3) tienen un débil dominio de transactivación carboxilo-terminal y un dominio de transactivación amino-terminal más fuerte en una región que se requiere para la interacción CBP-p160, 4) contiene al menos tres de los motivos LXXLL necesarios para la interacción proteína-proteína con otros coactivadores, y 5) a menudo tienen actividad HAT. El papel de HAT es particularmente interesante, ya que las mutaciones del dominio HAT desactivan muchos de estos factores de transcripción. El pensamiento actual sostiene que estas actividades HAT acetilan histonas, facilitan la remodelación de la cromatina en un entorno de transcripción eficiente. La acetilación/desacetilación de histonas juega así un papel crítico en la expresión genética. Finalmente, es importante observar que se han informado otros sustratos proteicos para la acetilación mediada por HAT, como los activadores de la transcripción que se unen al DNA y otros correguladores. Esos eventos de PTM no histónicos probablemente también tengan un importante factor en la respuesta regulatoria general.

Un pequeño número de proteínas, incluyendo NCoR y SMRT, comprende la **familia correpresor**. Funcionan, al menos en parte, como se describe en la figura 42-2. Otra familia incluye TRAP, DRIP y ARC (cuadro 42-6). Estas proteínas representan subunidades del mediador (véase el capítulo 36) y varían en tamaño de 80 a 240 kDa y se cree que unen el complejo receptor-coactivador nuclear con la RNA polimerasa II y los otros componentes del aparato de transcripción basal.

El papel exacto de estos coactivadores se encuentra actualmente bajo una intensa investigación. Muchas de estas proteínas tienen actividades enzimáticas intrínsecas. Esto es particularmente interesante en vista del hecho de que la acetilación, la fosforilación, la metilación, la sumoilación y la ubiquitinación, así como la proteólisis y la translocación celular, se han propuesto para alterar la actividad de algunos de estos correguladores y sus objetivos.

Parece que ciertas combinaciones de correguladores, y por tanto diferentes combinaciones de activadores e inhibidores, son responsables de acciones específicas inducidas por ligandos a través de varios receptores. Además, estas interacciones en un promotor dado son dinámicas. En algunos casos, se han observado complejos que constan de más de 45 factores de transcripción en un solo gen.

RESUMEN

- Las hormonas, las citocinas, las interleucinas y los factores de crecimiento utilizan una variedad de mecanismos de señalización para facilitar las respuestas adaptativa celular.
- El complejo ligando-receptor sirve como la señal inicial para los miembros de la familia de receptores nucleares.
- Las hormonas péptido/proteína y catecolamina de clase II, que se unen con los receptores de la superficie celular, generan una variedad de señales intracelulares. Estas incluyen cAMP, cGMP, Ca^{2+}, fosfatidilinosítidos y cascadas de proteína quinasa.
- Muchas respuestas hormonales se logran a través de alteraciones en la velocidad de transcripción de genes específicos.

- La superfamilia de proteínas del receptor nuclear desempeña un papel central en la regulación de la transcripción genética.
- Los receptores nucleares que se unen al DNA, que pueden tener hormonas, metabolitos o fármacos como ligandos, se unen a HRE específicas como homodímeros o como heterodímeros con RXR.
- Otra gran familia de proteínas correguladoras remodela la cromatina, modifica otros factores de transcripción y une los receptores nucleares al aparato de transcripción basal.

REFERENCIAS

Arvanitakis L, Geras-Raaka E, Gershengorn MC: Constitutively signaling G-protein-coupled receptors and human disease. *Trends Endocrinol Metab* 1998;9:27.

Beene DL, Scott JD: A-kinase anchoring proteins take shape. *Curr Opin in Cell Biol* 2007;19:192.

Cheung E, Kraus WL: Genomic analyses of hormone signaling and gene regulation. *Annu Rev Physiol* 2010;72:191-218.

Cohen P, Spiegelman BM: Cell biology of fat storage. *Mol Biol Cell* 2016;27:2523-2527.

Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR: Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415.

Dasgupta S, Lonard DM, O'Malley BW: Nuclear receptor coactivators: master regulators of human health and disease. *Annu Rev Med* 2014:65:279-292.

Fan W, Evans RM: Exercise mimetics: impact on health and performance. *Cell Metab* 2017;25:242-247.

Fantl WJ, Johnson DE, Williams LT: Signalling by receptor tyrosine kinases. *Annu Rev Biochem* 1993;62:453.

Jaken S: Protein kinase C isozymes and substrates. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:168.

Kobilka BK: Structural insights into adrenergic receptor function and pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* 2011;32:213-218.

Lazar MA: Maturing the nuclear receptor family. *J Clin Invest* 2017;127:-1123-1125.

Manglik A, Kobilka B: The role of protein dynamics in GPCR function: insights from the β2AR and rhodopsin. *Curr Opin Cell Biol* 2014;-27:136-143.

Métivier R, Reid G, Gannon F: Transcription in four dimensions: nuclear receptor-directed initiation of gene expression. *EMBO Rep* 2006;7:161.

O'Malley B: Coregulators: from whence came these "master genes." *Mol Endocrinol* 2007;21:1009.

Ravnskjaer K, Madiraju A, Montminy M: Role of the cAMP pathway in glucose and lipid metabolism. *Handb Exp Pharmacol* 2016;233:29-49.

Reiter E, Ahn S, Shukla AK: Molecular mechanism of β-arrestin-biased agonism at seven-transmembrane receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:179-197.

Szwarc MM, Lydon JP, O'Malley BW: Steroid receptor coactivators as therapeutic targets in the female reproductive system. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015;154:32-38.

Wang Z, Schaffer NE, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ: Nuclear receptors: emerging drug targets for parasitic diseases. *J Clin Invest* 2017;127:-1165-1171.

Weikum ER, Knuesel MT, Ortlund EA, Yamamoto KR: Glucocorticoid receptor control of transcription: precision and plasticity via allostery. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18:159-174.

Zhang Q Lenardo MJ, Baltimore D: 30 years of NF-κB: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell* 2017;168:37-57.

Preguntas del examen

Sección VIII. Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular

1. Con respecto a los lípidos de la membrana, seleccione la respuesta FALSA.
   A. El principal fosfolípido por masa en las membranas humanas es generalmente la fosfatidilcolina.
   B. Los glicolípidos se encuentran en las valvas internas y externas de la membrana plasmática.
   C. El ácido fosfatídico es un precursor de la fosfatidilserina, pero no de la esfingomielina.
   D. La fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina se encuentran principalmente en la valva externa de la membrana plasmática.
   E. El flip-flop de fosfolípidos en las membranas es muy lento.
2. Con respecto a las proteínas de membrana, seleccione la única respuesta FALSA.
   A. Debido a consideraciones estéricas, las α-hélices no pueden existir en las membranas.
   B. Un gráfico de hidropatía ayuda a estimar si un segmento de una proteína es predominantemente hidrofóbico o hidrofílico. C. Ciertas proteínas se anclan a la valva externa de las membranas plasmáticas a través de estructuras de glicofosfatidilinositol (GPI).
   D. Adenilil ciclasa es una enzima marcadora de la membrana plasmática.
   E. La mielina tiene un contenido muy alto de lípidos en comparación con la proteína.
3. Con respecto al transporte de membrana, seleccione la única declaración FALSA.
   A. El potasio tiene una densidad de carga menor que el sodio y tiende a moverse más rápidamente a través de las membranas que el sodio.
   B. El flujo de iones a través de canales iónicos es un ejemplo de transporte pasivo.
   C. La difusión facilitada requiere un transportador de proteínas.
   D. La inhibición de la Na^+-K^+ -ATPasa inhibirá la absorción de glucosa dependiente del sodio en las células intestinales.
   E. La insulina, mediante el reclutamiento de transportadores de glucosa a la membrana plasmática, aumenta la absorción de glucosa en las células grasas pero no en los músculos.
4. En cuanto a Na^+-K^+-ATPasa, seleccione la única instrucción FALSA.
   A. Su acción mantiene la alta concentración intracelular de sodio, en comparación con el potasio.
   B. Puede usar tanto como 30% del gasto total de ATP de una célula.
   C. Se inhibe por digitálicos, un medicamento que es útil en ciertas afecciones cardiacas.
   D. Se encuentra en la membrana plasmática de las células.
   E. La fosforilación está involucrada en su mecanismo de acción, lo que lleva a su clasificación como un transportador activo impulsado por ATP de tipo P.
5. ¿Qué moléculas permiten a las células responder a una molécula de señalización extracelular específica?
   A. Carbohidratos específicos del receptor localizados en la superficie de la membrana plasmática interna.
   B. Bicapa lipídica plasmática.
   C. Canales de iones.
   D. Receptores que reconocen específicamente y unen esa molécula mensajera particular.
   E. Membranas nucleares intactas.
6. Indique el término generalmente aplicado a las moléculas mensajeras extracelulares que se unen a las proteínas receptoras transmembrana.
   A. Inhibidor competitivo.
   B. Ligando.
   C. Curva de Scatchard.
   D. Sustrato.
   E. Clave.
7. En señalización autocrina:
   A. Las moléculas mensajeras alcanzan a sus células blanco a través del flujo sanguíneo.
   B. Las moléculas mensajeras viajan sólo distancias cortas a través del espacio extracelular hasta las células que están muy cerca de la célula que está generando el mensaje.
   C. La célula que produce el mensajero expresa receptores en su superficie que pueden responder a ese mensajero.
   D. Las moléculas mensajeras se degradan rápidamente y, por tanto, sólo pueden funcionar en distancias cortas.
8. Independientemente de cómo se inicie una señal, el evento de unión al ligando se propaga a través de segundos mensajeros o el reclutamiento de proteínas. ¿Cuál es el resultado bioquímico final o último de estos eventos vinculantes?
   A. Una proteína en el medio de una vía de señalización intracelular se activa.
   B. Se activa una proteína en la parte inferior de una vía de señalización intracelular.
   C. Se activa una proteína en la parte superior de una vía de señalización extracelular.
   D. Se desactiva una proteína en la parte superior de una vía de señalización intracelular.
   E. Se activa una proteína en la parte superior de una vía de señalización intracelular.
9. ¿Qué características de la superfamilia del receptor nuclear sugieren que estas proteínas han evolucionado a partir de un ancestro común?
   A. Todas se unen al mismo ligando con alta afinidad.
   B. Todos ellas funcionan dentro del núcleo.
   C. Todas están sujetas a la fosforilación reguladora.
   D. Todas ellas contienen regiones de alta similitud/identidad de secuencia de aminoácidos.
   E. Todos ellas unen DNA.
10. ¿Qué efecto tiene la degradación de los complejos receptor-ligando después de la internalización sobre la capacidad de una célula para responder si vuelve a exponer inmediatamente a la misma hormona?
    A. La respuesta celular se atenúa debido a una disminución en el número de receptores celulares.
    B. La respuesta celular aumenta debido a la menor competencia entre el receptor y el ligando.
    C. La respuesta celular no cambia a los estímulos posteriores.
    D. La respuesta de la hormona celular ahora es bimodal; mejorada por un corto tiempo y luego inactivada.
11. Típicamente, ¿cuál es la primera reacción después de que la mayoría de las proteínas receptoras de tirosina quinasas (RTK) se unen con su ligando?
    A. Trimerización del receptor.
    B. Degradación del receptor.
    C. Desnaturalización del receptor.

D. Disociación del receptor.
E. Dimerización del receptor.

12. ¿Dónde se encuentra el dominio catalítico de quinasa del receptor proteína-tirosina quinasas?
    A. En la superficie extracelular del receptor, inmediatamente adyacente al dominio de unión al ligando.
    B. En el dominio citoplasmático del receptor.
    C. En una proteína independiente que se une rápidamente al receptor al unirse al ligando.
    D. Dentro de la porción transmembrana del receptor.
13. Las subunidades de las proteínas G heterotriméricas se llaman subunidades __, __ y__.
    A. α, β y χ
    B. α, β y δ
    C. α, γ y δ
    D. α, β y γ
    E. γ, δ y η
14. De los receptores enumerados a continuación, ¿cuáles pueden conducir directamente un flujo de iones a través de la membrana plasmática cuando se unen con su ligando afín?
    A. Receptor tirosina quinasas (RTK).
    B. Receptores acoplados a proteína G (GPCR).
    C. Subunidad gamma α de la proteína G.
    D. Receptores de hormonas esteroides.
    E. Canales controlados por ligando.
15. ¿Cuál de los siguientes no es un ligando natural que se une a los receptores acoplados a la proteína G?
    A. Hormonas.
    B. Hormonas esteroides.
    C. Quimioatracante.
    D. Derivados del opio.
    E. Neurotransmisores.
16. Coloque los eventos de señalización enumerados a continuación en el orden correcto.
    1. La proteína G se une al receptor activado formando un complejo de receptor-proteína G.
    2. Liberación del PIB por la proteína G.
    3. Cambio en la conformación de las asas citoplasmáticas del receptor.
    4. Unión de GTP por la proteína G.
    5. Aumento de la afinidad del receptor por una proteína G en la superficie citoplasmática de la membrana.
    6. Unión de una hormona o neurotransmisor a un receptor acoplado a proteína G.
    7. Cambio de conformación en la subunidad α de la proteína G.

    A. 6 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4 – 7
    B. 6 – 5 – 4 – 1 – 7 – 2 – 3
    C. 6 – 3 – 5 – 1 – 7 – 2 – 4
    D. 6 – 7 – 3 – 5 – 1 – 2 – 4
    E. 6 – 3 – 5 – 4 – 7 – 2 – 1
17. ¿Qué proteínas G heterotriméricas acoplan los receptores a la adenilil ciclasa a través de la activación de las subunidades G_α unidas a GTP?
    A. Familia G_s.
    B. Familia G_q.
    C. Familia G_i.
    D. Familia $G_{12/13}$.
    E. familia G_x.
18. ¿Qué debe pasar para evitar la sobreestimulación de una hormona?
    A. Las hormonas deben ser degradadas.
    B. Las proteínas G deben reciclarse y luego degradarse.
    C. Los receptores deben estar bloqueados para que no continúen activando las proteínas G.
    D. Los receptores deben dimerizar.
19. ¿Cuál de las siguientes hormonas se denomina hormona de "huir o luchar" secretada por la médula suprarrenal?
    A. Adrenalina.
    B. Oxitocina.
    C. Insulina.
    D. Glucagón.
    E. Somatostatina.
20. ¿Qué hormona secretan las células α en el páncreas en respuesta a los bajos niveles de glucosa en sangre?
    A. Insulina.
    B. Glucagón.
    C. Estradiol.
    D. Adrenalina.
    E. Somatostatina.
21. En células hepáticas, la expresión de genes que codifican enzimas gluconeogénicas, como fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, se induce en respuesta a ¿cuál de las siguientes moléculas?
    A. cGMP.
    B. Insulina.
    C. ATP.
    D. cAMP.
    E. Colesterol.
22. ¿Qué le sucede a la proteína quinasa A (PKA) después de la unión de cAMP?
    A. Las subunidades reguladoras de PKA se disocian, activando así las subunidades catalíticas.
    B. Las subunidades catalíticas de PKA se unen a dos subunidades reguladoras, activando así las subunidades catalíticas.
    C. Las subunidades reguladoras inhibitorias se disocian de las subunidades catalíticas, inactivando completamente la enzima.
    D. Las subunidades reguladoras estimuladoras se disocian de las subunidades catalíticas, inhibiendo la enzima.
    E. La fosfodiesterasa se une a las subunidades catalíticas, lo que da como resultado la inactivación enzimática.

SECCIÓN

IX

Temas especiales (A)

CAPÍTULO

43

Nutrición, digestión y absorción

David A. Bender, PhD y Peter A. Mayes, PhD, DSc

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo deberá ser capaz de:

- Describir la digestión y la absorción de los carbohidratos, los lípidos, las proteínas, las vitaminas y los minerales.
- Explicar cómo se pueden medir y estimar los requerimientos de energía y cómo medir el cociente respiratorio que permite la estimación de la mezcla de combustibles metabólicos que han sido oxidados.
- Describir las consecuencias de la desnutrición: el marasmo, la caquexia y el kwashiorkor.
- Explicar cómo se determinan los requerimientos de proteínas y por qué son necesarias mayores cantidades de algunas proteínas que de otras para mantener el equilibrio del nitrógeno.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además del agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (principalmente carbohidratos y lípidos), proteínas (para el crecimiento y renovación de las proteínas en los tejidos, así como una fuente de combustible metabólico), fibra (para la masa en el lumen intestinal), minerales (que contienen elementos con funciones metabólicas específicas) y vitaminas con ácidos grasos esenciales (compuestos orgánicos que se necesitan en cantidades más pequeñas para otras funciones metabólicas y fisiológicas). Los polisacáridos, los triacilgliceroles y las proteínas que componen la mayor parte de la dieta deben ser hidrolizados a sus monosacáridos constituyentes como ácidos grasos y aminoácidos, respectivamente, antes de la absorción y la utilización de los mismos. Los minerales y las vitaminas deben ser liberadas de la compleja matriz de los alimentos antes de que puedan ser absorbidos y aprovechados.

A nivel mundial, la **desnutrición** es generalizada, lo que lleva a un deterioro del crecimiento, un sistema inmune defectuoso y una reducción de la capacidad de trabajo. Por el contrario en los países desarrollados y cada vez más en los países en desarrollo, hay un consumo excesivo de alimentos que conducen a la obesidad, desarrollo de la diabetes, enfermedades cardiovasculares y algunos cánceres. En todo el mundo, hay más personas con sobrepeso y obesas que personas desnutridas. Las deficiencias de vitamina A, hierro y yodo plantean importantes problemas de salud en muchos países y las deficiencias de otras vitaminas y minerales son una causa importante de los problemas de salud. En los países desarrollados, la deficiencia de nutrientes es rara, aunque hay sectores vulnerables de la población en riesgo. La ingesta de minerales y vitaminas que son adecuados para prevenir la deficiencia puede ser inadecuada para promover una salud óptima y la longevidad.

La secreción excesiva de ácido gástrico, asociada con la infección por *Helicobacter pylori*, puede traer como resultado el desarrollo de úlceras gástricas y duodenales; los pequeños cambios en la composición de la bilis pueden provocar la cristalización del colesterol en **cálculos** biliares; el fallo de la secreción pancreática exocrina (como en la **fibrosis quística**) conduce a la desnutrición y la esteatorrea. La **intolerancia a la lactosa** es el resultado de la deficiencia de lactasa, lo cual provoca diarrea y molestias intestinales cuando se consume lactosa. La absorción de péptidos intactos que

estimulan las respuestas de los anticuerpos causa reacciones **alérgicas**; la enfermedad celíaca es una reacción alérgica al gluten de trigo.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS

La digestión de los carbohidratos se lleva a cabo mediante la hidrólisis para liberar los oligosacáridos, luego los monosacáridos y los disacáridos libres. El aumento de la glucosa en la sangre después de una dosis de prueba de un carbohidrato en comparación con la misma después de una cantidad equivalente de glucosa (como glucosa o a partir de un alimento de almidón de referencia) es conocido como el índice glucémico. La glucosa y la galactosa tienen un índice de 1 (o 100%), al igual que la lactosa, la maltosa, la isomaltosa y la trehalosa, que dan lugar a esos monosacáridos en la hidrólisis. La fructosa y los alcoholes de azúcares se absorben con menos rapidez y tienen un índice glucémico más bajo, al igual que la sacarosa. El índice glucémico del almidón varía entre cerca de 1 (o 100%) y cerca de 0 como resultado de tasas variables de hidrólisis, y el de los polisacáridos sin almidón (véase figura 15-13) es 0. Los alimentos que tienen un bajo índice glucémico se consideran benéficos porque causan menos fluctuación en la secreción de la insulina. El almidón resistente y los polisacáridos sin almidón proporcionan sustratos para la fermentación bacteriana en el intestino grueso y el butirato resultante junto con otros ácidos grasos de cadena corta proporcionan una fuente significativa de combustible para los enterocitos intestinales. Hay evidencia de que el butirato también tiene actividad antiproliferativa y proporciona protección contra el cáncer colorrectal.

Catálisis de las amilasas la hidrólisis del almidón

La hidrólisis del almidón es catalizada por amilasas salivares y pancreáticas que catalizan la hidrólisis aleatoria de los enlaces α (1→4) de los glucósidos, produciendo dextrinas, luego una mezcla de glucosa, maltosa y maltotriosa y pequeñas dextrinas ramificadas (a partir de los puntos de ramificación en la amilopectina (véase figura 15-12).

Las enzimas disacaridasas están en el borde de cepillo

Las disacaridasas, la maltasa, la sacarasa–isomaltasa (una enzima bifuncional que cataliza la hidrólisis de la sacarosa y la isomaltosa), la lactasa, igual que la trehalasa se encuentran en el borde de cepillo de las células de la mucosa intestinal donde los monosacáridos resultantes y los que surgen de la dieta son absorbidos. La deficiencia congénita de la lactasa ocurre rara vez en los bebés, además conduce a la intolerancia a la lactosa y a la falta de crecimiento cuando se alimenta de la leche materna o de la fórmula infantil normal. La deficiencia congénita de la sacarasa–isomaltasa ocurre entre los inuit, lo que conduce a la intolerancia a la sacarosa con diarrea persistente y falta de crecimiento cuando la dieta contiene sacarosa.

En la mayoría de los mamíferos, así como en la mayoría de los seres humanos, la actividad de la lactasa comienza a caer después del destete y se pierde casi por completo al final de la adolescencia, lo que lleva a la **intolerancia a la lactosa**. De esta forma, la lactosa permanece en el lumen intestinal, donde es un sustrato para la fermentación bacteriana a lactato, lo que resulta en molestias abdominales y diarrea después de un consumo en grandes cantidades. En dos grupos de población, pueblos originarios del norte de Europa y tribus nómadas del África subsahariana y Arabia, la lactasa persiste después del destete y en la vida adulta. Algunos mamíferos marinos segregan una leche alta en grasa que no contiene carbohidratos y sus cachorros carecen de lactasa.

Existen dos mecanismos separados para la absorción de los monosacáridos en el intestino delgado

La glucosa y la galactosa son absorbidas por un proceso dependiente del sodio. Ambas son trasladadas por la misma proteína de transporte (SGLT 1) y compiten entre sí por la absorción intestinal (**figura 43-1**). Otros monosacáridos son absorbidos como consecuencia de la difusión mediada por el transportador. Porque no son activamente transportados, la fructosa y los alcoholes de azúcares sólo se absorben por su gradiente de concentración y después de un consumo moderado–alto, algunos pueden permanecer en el lumen intestinal, actuando como sustrato para la fermentación bacteriana. Las grandes ingestas de fructosa y alcoholes de azúcares pueden conducir a diarrea osmótica.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LÍPIDOS

Los lípidos principales en la dieta son triacilgliceroles y, en menor medida, fosfolípidos. Estas son moléculas hidrofóbicas y que tie-

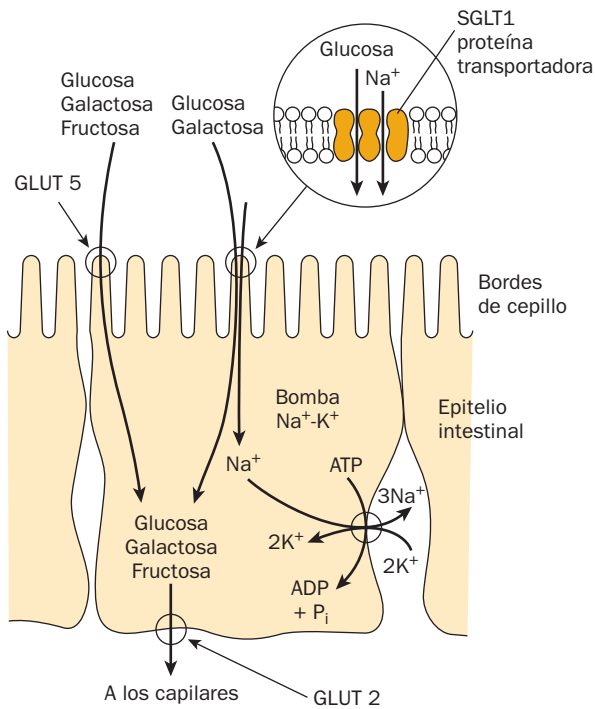


FIGURA 43-1 Transporte de glucosa, fructosa y galactosa a través del epitelio intestinal. El transportador SGLT 1 es acoplado a la bomba Na^+-K^+ permitiendo que glucosa y galactosa sean transportadas contra sus gradientes de concentración. El transportador facilitador independiente de Na^+ y GLUT 5 permite a la fructosa, así como a la glucosa y la galactosa transportarse por sus gradientes de concentración. La salida de la célula para todos los azúcares es la vía del transportador facilitador GLUT 2.

nen que ser hidrolizadas y emulsionadas a gotitas muy pequeñas (micelas, 4-6 nm de diámetro) antes de que puedan ser absorbidas. Las vitaminas liposolubles, A, D, E y K y una variedad de otros lípidos (incluido el colesterol y los carotenos) se absorben disueltos en las micelas de lípidos La absorción de los carotenos y las vitaminas liposolubles se ve afectada por una dieta baja en grasas.

La hidrólisis de los triacilgliceroles se inicia por las lipasas linguales y gástricas que atacan el enlace éster sn-3 formando 1,2-diacilgliceroles y ácidos grasos libres, que actúan como agentes emulsionantes. La lipasa pancreática se secreta en el intestino delgado y requiere una proteína pancreática adicional para la actividad: la colipasa. Es específica para los enlaces de ésteres primarios; es decir, las posiciones 1 y 3 en los triacilgliceroles que da como resultado 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres como principales productos finales de la digestión del triacilglicerol luminal. Se usan inhibidores de la lipasa pancreática para inhibir la hidrólisis del triacilglicerol en el tratamiento de la obesidad. La esterasa pancreática en el lumen intestinal hidroliza los monoacilgliceroles, pero se consideran sustratos pobres y sólo ~25% del triacilglicerol ingerido está completamente hidrolizado a glicerol y ácidos grasos antes de la absorción (**figura 43-2**). Las sales biliares, formadas en el hígado y secretadas en la bilis, permiten la emulsificación de los productos de la digestión de los lípidos en micelas junto con los fosfolípidos de la dieta y el colesterol secretado de la bilis (alrededor de 2 g/día), así como el colesterol de la dieta (aproximadamente 0.5 g/d). Las micelas tienen menos de 1 μm de diámetro, además son solubles para que permitan a los productos de la digestión, incluidas las vitaminas liposolubles, ser transportadas a través del ambiente acuoso del lumen intestinal para entrar en contacto cercano con el borde en cepillo de las células de la mucosa, permite la captación en el epitelio. Las sales biliares permanecen en el lumen del intestino, donde la mayoría se absorbe desde el íleon hacia la **circulación enterohepática** (véase capítulo 26).

Dentro del epitelio intestinal, el 1-monoaciglicerol es hidrolizado a ácidos grasos y glicerol y los 2-monoacilgliceroles son reacilados a triacilgliceroles a través de la **vía del monoacilglicerol**. El glicerol liberado en el lumen intestinal se absorbe en la vena porta hepática; el glicerol liberado dentro del epitelio se reutiliza para la síntesis del triacilglicerol a través de la vía normal del ácido fosfatídico (véase capítulo 24). Los ácidos grasos de cadena larga están esterificados a triacilglicerol en las células de la mucosa y junto con los otros productos de la digestión de los lípidos, secretados como quilomicrones a los linfáticos, ingresando al torrente sanguíneo a través del conducto torácico (véase capítulo 25). Los ácidos grasos de cadena corta y media se absorben principalmente en la vena porta–hepática como ácidos grasos libres.

El colesterol disuelto se absorbe en las micelas de lípidos y se esterifica de manera principal en la mucosa intestinal antes de incorporarse en los quilomicrones. Los esteroles y estanoles vegetales (en los que el anillo *B* está saturado) compiten con el colesterol por la esterificación, pero son sustratos pobres, por lo que hay una mayor cantidad de colesterol no esterificado en las células de la mucosa. El colesterol no esterificado y otros esteroles son transportados activamente fuera de las células de la mucosa en el lumen intestinal. Lo cual significa que los esteroles vegetales y los estanoles inhiben eficazmente la absorción no sólo del colesterol de la dieta, sino también la mayor cantidad secretada en la bilis, lo que reduce el contenido de colesterol en todo el cuerpo y de ahí la concentración de colesterol en el plasma.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS

Las proteínas nativas son resistentes a la digestión porque pocos enlaces peptídicos son accesibles a las enzimas proteolíticas sin previa desnaturalización por el calor de la cocción y por la acción del ácido gástrico.

Varios grupos de enzimas catalizan la digestión de las proteínas

Hay dos clases principales de enzimas digestivas proteolíticas (**proteasas**) con diferentes especificidades para los aminoácidos, formando el enlace peptídico para ser hidrolizado. Las **endopeptidasas** hidrolizan los enlaces peptídicos entre aminoácidos específicos en toda la molécula. Son las primeras enzimas en movilizarse que producen una mayor cantidad de fragmentos menores. La pepsina en el jugo gástrico que cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos adyacentes en los aminoácidos con cadenas laterales voluminosas (aminoácidos aromáticos, de cadena ramificada y metionina). La tripsina, quimotripsina y elastasa son secretadas al intestino delgado por el páncreas. La tripsina cataliza la hidrólisis de los ésteres de la lisina, así como la arginina, los ésteres de quimotripsina de los aminoácidos aromáticos y los ésteres de la elastasa de pequeños aminoácidos alifáticos neutrales. Y las **exopeptidasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces peptídicos, uno a la vez, desde los extremos de los péptidos. Las **carboxipeptidasas** secretadas en el jugo pancreático desbloquean a los aminoácidos del terminal carboxilo libre; las aminopeptidasas, secretadas por las células de la mucosa intestinal, liberan los aminoácidos del terminal amino. Las dipeptidasas y tripeptidasas en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal catalizan la hidrólisis de di y tripéptidos que no son sustratos para amino y carboxipeptidasas.

Las proteasas se secretan como **zimógenos** inactivos; el sitio activo de la enzima está enmascarado por una pequeña región de la cadena del péptido que se elimina por hidrólisis de un enlace peptídico específico. El pepsinógeno se activa a pepsina por el ácido gástrico y por la pepsina activada. Por otra parte en el intestino delgado, el tripsinógeno considerado el precursor de la tripsina, se activa por la enteropeptidasa que es secretada por las células epiteliales duodenales; la tripsina puede activar el quimotripsinógeno a quimotripsina, la proelastasa a elastasa, la procarboxipeptidasa a carboxipeptidasa y la proaminopeptidasa a la aminopeptidasa.

Los aminoácidos libres y los pequeños péptidos son absorbidos por diferentes mecanismos

El producto final de la acción de las endopeptidasas y exopeptidasas es una mezcla de aminoácidos libres, di y tripéptidos, así como oligopéptidos, los cuales son absorbidos. Por otra parte, los aminoácidos libres son absorbidos a través de la mucosa intestinal por el transporte activo dependiente de sodio. Hay varios transportadores de aminoácidos diferentes con especificidad por la naturaleza de la cadena lateral de los aminoácidos (grande o pequeño, neutral, ácido o básico). Los aminoácidos transportados por cualquier transportista compiten entre sí para la absorción y captación en el tejido. Los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde de cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se hidrolizan para liberar aminoácidos, que luego serán transportados a la vena porta hepática. Los péptidos relativamente grandes pueden ser absorbidos in-

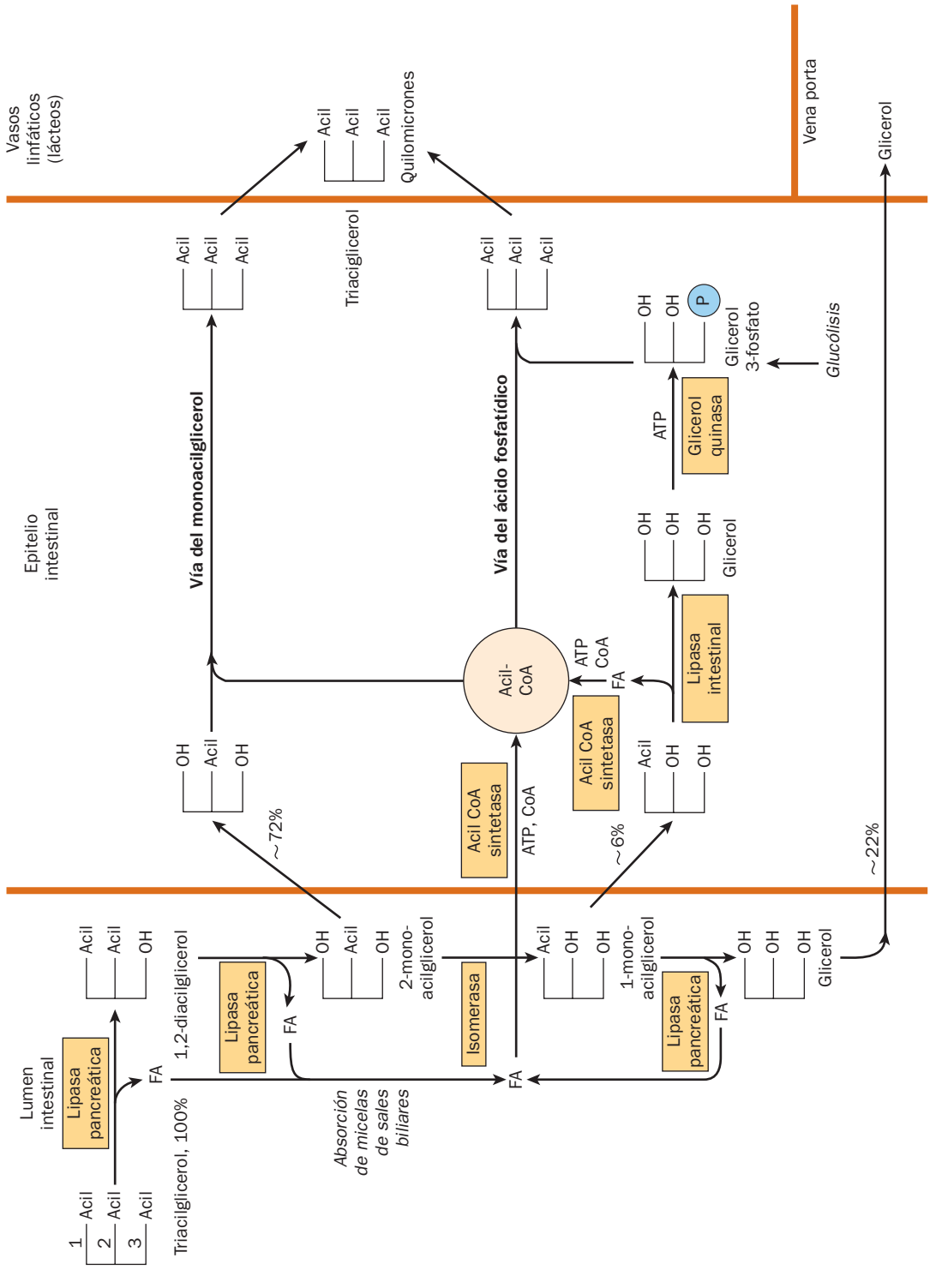


FIGURA 43-2 Digestión y absorción de triacilgliceroles. Los valores dados para la captación porcentual pueden variar ampliamente, pero indican la importancia relativa de las tres vías.

tactos, ya sea por captación en las células epiteliales de la mucosa (transcelular) o al pasar entre las células epiteliales (paracelular). Muchos de esos péptidos se consideran grandes como para estimular la formación de anticuerpos, esta es la base de las reacciones alérgicas a los alimentos.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES

Las vitaminas y los minerales se liberan de los alimentos durante la digestión. Por otra parte, la disponibilidad de las vitaminas, así como los minerales dependen del tipo de alimento, en especial para los últimos incluyendo la presencia de compuestos quelantes. Las vitaminas solubles en grasas se absorben en las micelas de lípidos que son el resultado de la digestión de la grasa; las vitaminas solubles en agua y la mayoría de las sales minerales se absorben del intestino delgado, ya sea por la actividad de transporte o por difusión mediada por el transportador, seguida del enlace con las proteínas intracelulares para lograr la absorción concentrada. Por otra parte, la absorción de la vitamina B_{12} requiere una proteína de transporte específica, factor intrínseco (véase capítulo 44); la absorción del calcio es dependiente de la vitamina D; la absorción de zinc requiere la unión de este último al ligando secretado por el páncreas exocrino, cabe destacar que la absorción de hierro está limitada (ver a continuación).

La absorción de calcio es dependiente de la vitamina D

Además del papel en la regulación de la homeostasis del calcio, se requiere vitamina D para la absorción intestinal del calcio. La síntesis de la proteína de unión al calcio intracelular llamada calbindina es necesaria para la absorción del calcio e inducida por la vitamina D. La vitamina D también actúa para reclutar transportadores de calcio en la superficie de la célula, lo que aumenta la absorción del calcio de forma rápida, un proceso que es independiente de la nueva síntesis de proteínas.

El ácido fítico (hexafosfato de inositol) en los cereales se une al calcio en el lumen intestinal evitando la absorción. Otros minerales como el zinc, también son quelados por el fitato. Lo anterior es un problema entre las personas que consumen grandes cantidades de productos de trigo integral sin levadura; la levadura contiene una enzima, **fitasa** que defosforila el fitato, por lo que se vuelve inactivo. De modo que altas concentraciones de ácidos grasos en el lumen intestinal producen la absorción de la grasa deteriorada, también es posible reducir la absorción del calcio formando sales insolubles de calcio; una alta ingesta de oxalato a veces puede causar deficiencia puesto que el oxalato de calcio es insoluble.

La absorción de hierro es limitada y estrictamente controlada, pero mejorada por la vitamina C y el alcohol

Aunque la deficiencia de hierro es un problema común en los países desarrollados y los países en desarrollo, alrededor de 10% de la población está genéticamente en riesgo de una sobrecarga de hierro (**hemocromatosis**) y para reducir esta situación de los efectos adversos de la generación no enzimática de radicales libres por las sales de hierro, la absorción debe ser estrictamente regulada. Así el hierro inorgánico se transporta a la mucosa de la célula por un transportador de iones de metal divalente unido a protones y acumulado de forma intracelular al unirse a la **ferritina**. El hierro abandona la mucosa de la célula a través de una proteína transportadora de ferroportina, pero sólo si hay **transferrina** libre en el plasma para unirse. Una vez que la transferrina se satura de hierro, cualquiera que se haya acumulado en la mucosa de las células se pierden cuando las células se desprenden. La expresión del gen de la ferroportina (y posiblemente también para el transportador del ion de metal divalente) se regula de manera negativa por la hepcidina, un péptido secretado por el hígado cuando las reservas de hierro corporal son adecuadas. En respuesta a la hipoxia, anemia o hemorragia, la síntesis de hepcidina se reduce, lo que lleva a una mayor síntesis de ferroportina y al aumento de la absorción de hierro (**figura 43-3**). Como resultado de esta barrera mucosa, sólo ~10% del

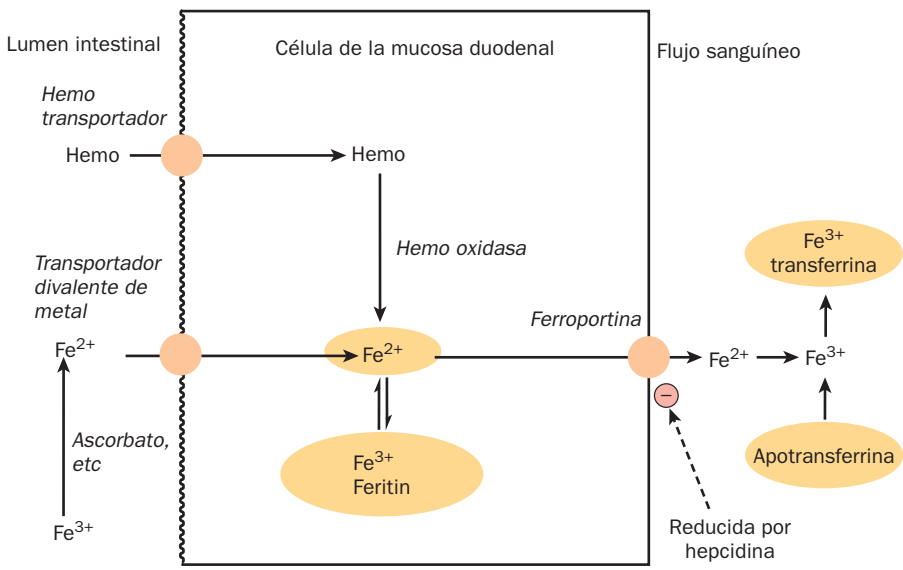


FIGURA 43-3 **Absorción de hierro.** La hepcidina secretada por el hígado regula de forma negativa la síntesis de ferroportina y limita la absorción de hierro.

hierro de la dieta se absorbe, y sólo de 1 a 5% desde muchos alimentos vegetales.

El hierro inorgánico se absorbe en el estado Fe^{2+} (reducido) y, por tanto, la presencia de agentes reductores mejora la absorción. El compuesto más efectivo es la vitamina C, mientras que la ingesta de 40 a 80 mg de vitamina C por día es más que adecuada para cumplir con los requerimientos, una ingesta de 25 a 50 mg por comida mejora la absorción del hierro, especialmente cuando las sales de hierro son usadas para tratar la anemia por deficiencia de hierro. También el alcohol y la fructosa mejoran la absorción de hierro. El hierro hemo de la carne se absorbe por separado y está considerablemente más disponible que el hierro inorgánico. Sin embargo, la absorción de ambos, el hierro inorgánico y hemo, se ven afectados por el calcio: un vaso de leche en una comida reduce significativamente la disponibilidad de hierro.

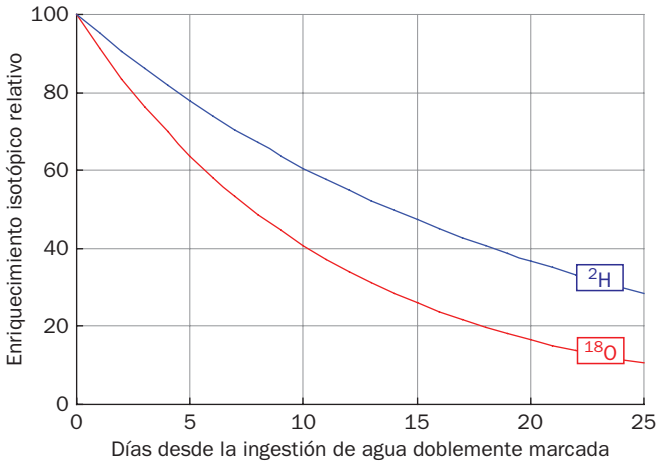


FIGURA 43-4 **Agua doblemente marcada isotópicamente para la estimación del gasto de energía.**

BALANCE DE ENERGÍA: SOBRENUTRICIÓN Y DESNUTRICIÓN

Después de la provisión de agua, el primer requerimiento del cuerpo son los combustibles metabólicos: grasas, carbohidratos y aminoácidos de las proteínas. La ingesta de alimentos que excede el gasto de energía conduce a la **obesidad**, mientras que la ingesta inferior al gasto conduce al adelgazamiento y al debilitamiento como el **marasmo** y el **kwashiorkor**. De modo que la obesidad y la desnutrición severa se asocian con una mayor mortalidad. El índice de masa corporal = peso (en kg/altura^2 en m) se utiliza como una forma de expresar la obesidad relativa; un rango deseable está entre 20 y 25.

Los requisitos de energía son estimados por la medición del gasto de energía

El gasto de energía se puede determinar de forma directa midiendo la salida de calor del cuerpo, por lo regular, se estima de manera indirecta a partir del consumo de oxígeno. Hay un gasto de energía de ~20 kJ/L de oxígeno consumido, sin considerar si el combustible que se metaboliza es carbohidrato, grasa o proteína (véase cuadro 14-1).

La medición de la proporción del volumen de dióxido de carbono producido: volumen de oxígeno consumido **cociente respiratorio** (**RQ,** *respiratory quotient*) es una indicación de la mezcla de combustibles metabólicos oxidados (véase el cuadro 14-1).

Una técnica más reciente permite la estimación del total del gasto de energía durante un periodo de 1 a 3 semanas, utilizando el agua doblemente marcada isotópicamente, $^{2}H_{2}{}^{18}O$. ^{2}H pierde del cuerpo sólo el agua, mientras con ^{18}O se pierde tanto el agua como el dióxido de carbono; la diferencia en la tasa de pérdida de las dos medidas permite la estimación de la producción total de dióxido de carbono, y por tanto del consumo de oxígeno y el gasto de energía (**figura 43-4**).

La **tasa metabólica basal** (**BMR**, *basal metabolic rate*) es el gasto de energía por el cuerpo cuando se encuentra en reposo, pero no dormido, bajo condiciones controladas de neutralidad térmica, en periodos aproximados de 12 horas después de la última comida dependiendo del peso, la edad y el sexo. El gasto total de energía depende de la BMR, la energía requerida para la actividad física y el costo de energía para sintetizar reservas en el estado "alimentado". Por tanto, es posible estimar el requerimiento de energía de un individuo a partir del peso corporal, la edad, el sexo y el nivel de actividad física.

El peso corporal afecta la BMR porque hay una mayor cantidad de tejido activo en un cuerpo más grande. La disminución de la TMB con el aumento de la edad incluso cuando el peso corporal se mantiene constante, es el resultado de la sustitución del tejido muscular por el tejido adiposo, que es en término metabólico menos activo. Del mismo modo, las mujeres tienen una tasa de crecimiento corporal significativamente menor que los hombres del mismo peso corporal y edad porque los cuerpos de las mujeres contienen de forma proporcional más tejido adiposo.

Aumento de los requerimientos de energía con la actividad

La forma más útil de expresar el costo de energía de las actividades físicas es como un múltiplo de BMR. Esto se conoce como **relación de actividad física** (**PAR**, *physical activity ratio*) o **equivalente metabólico de la tarea** (**MET,** *metabolic equivalent of the task*). Las actividades sedentarias usan sólo alrededor de 1.1 a 1.2xBMR. Por el contrario, el esfuerzo vigoroso como subir escaleras, caminar de fondo cuesta arriba, etc., puede usar de 6 a 8xBMR. El **nivel de actividad física** (**PAL**, *physical activity level*) general, es la suma del PAR de diferentes actividades multiplicado por el tiempo empleado para esa actividad, dividido entre 24 horas.

El diez por ciento de la producción de energía de una comida se puede gastar en la formación de reservas

Hay un aumento considerable en la tasa metabólica después de una comida (termogénesis inducida por la dieta). Una pequeña parte de esto es el costo energético de la secreción de enzimas digestivas y del transporte activo de los productos de la digestión; la mayor parte es el costo energético de sintetizar reservas de glucógeno, triacilglicerol y proteína.

Hay dos formas extremas de desnutrición

El marasmo puede ocurrir tanto en adultos como en niños y ocurre en grupos vulnerables de todas las poblaciones. El kwashiorkor sólo afecta a los niños y se ha registrado sólo en países en desarrollo.

La característica distintiva del kwashiorkor es que hay retención de fluido, lo que conduce a edema e infiltración grasa del hígado. El marasmo es un estado de extremo adelgazamiento; se manifiesta el resultado de un balance energético negativo prolongado. dado que no sólo se han agotado las reservas de grasa del cuerpo, sino también el desgaste del músculo, *y a* medida que la condición avanza, hay pérdida de proteína en el corazón, el hígado y los riñones. Los aminoácidos liberados por el catabolismo de las proteínas tisulares se utilizan como fuente de combustible metabólico y como sustratos para la gluconeogénesis para mantener un suministro de glucosa para el cerebro y los glóbulos rojos (véase *c*apítulo 20). Como resultado de la síntesis reducida de proteínas, hay una respuesta inmune deteriorada y un mayor riesgo de infección. Se produce el deterioro de la proliferación celular de la mucosa en el intestino, lo que resulta en una reducción en el área superficial de la mucosa intestinal y la reducción en la absorción de los nutrientes como están disponibles.

Pacientes con cáncer avanzado o con SIDA están desnutridos

Los pacientes con cáncer avanzado, infección por VIH y SIDA, así como otras enfermedades crónicas con frecuencia están desnutridos, se encuentran en una condición llamada **caquexia**. Es decir; que físicamente muestran todos los signos del marasmo, pero hay más pérdida de proteína en el cuerpo que la que ocurre en la inanición. A diferencia del marasmo, donde la síntesis proteica se reduce, pero el catabolismo no se ve afectado, en la caquexia la secreción de citoquinas en respuesta a la infección y el cáncer aumenta el catabolismo de la proteína tisular por la vía ubiquitina–proteasoma dependiente del ATP, por lo que aumenta el gasto de energía. Los pacientes se convierten en **hipermetabólicos**; es decir, que tienen un BMR considerablemente aumentado. Además de la activación de la vía ubiquitina–proteasoma del catabolismo proteico, otros tres factores están involucrados. Muchos tumores metabolizan la glucosa anaeróbicamente para liberar lactato. Esto luego se usa para la gluconeogénesis en el hígado que consume energía con un costo neto de 6 ATP por cada mol de glucosa ciclada (véase *f*igura 19-4). Hay un aumento de la estimulación mitocondrial **desacoplando proteínas** por las **citoquinas** que conducen a la termogénesis y al aumento de la oxidación de los combustibles metabólicos. Se produce el ciclo fútil de los lípidos porque la lipasa sensible a las hormonas se activa por un proteoglicano secretado por los tumores, que da como resultado la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo y la reesterificación costosa del ATP a triacilgliceroles en el hígado que son exportadas en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, *very–low–density lipoprotein*).

El kwashiorkor afecta a los niños desnutridos

Además del desgaste del tejido muscular, la pérdida de la mucosa del intestino y el daño en las respuestas inmunes observadas en el marasmo, los niños con el **kwashiorkor** muestran un número de rasgos característicos. La peculiaridad definitoria es el **edema**, asociado con una disminución de la concentración de proteínas plasmáticas. Además, existe una ampliación del hígado como resultado de la acumulación de grasa. En la antigüedad se creía que la causa del kwashiorkor era la falta de proteínas con una ingesta energética más o menos adecuada. Sin embargo, el análisis de las dietas en los niños afectados muestra lo contrario. La deficiencia de proteínas conduce al retraso del crecimiento y los niños con kwashiorkor tienen menos retraso en el crecimiento que aquellos con marasmo. Además, el edema comienza a mejorar temprano con el tratamiento, cuando el niño aún recibe una dieta baja en proteínas.

Es muy frecuente que una infección precipite el kwashiorkor. Además de la deficiencia general de alimentos, probablemente haya una deficiencia de nutrientes antioxidantes como el zinc, el cobre, el caroteno y las vitaminas C y E. El estallido respiratorio en respuesta a la infección conduce a la producción de oxígeno y **radicales libres** de halógenos como parte de la acción citotóxica de los macrófagos estimulados. Dicho estrés oxidante agregado desencadena el desarrollo del kwashiorkor.

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y AMINOÁCIDO

Los requisitos de proteína pueden ser determinados midiendo el balance de nitrógeno

El estado de la nutrición proteica puede determinarse midiendo la ingesta dietética y la producción de compuestos nitrogenados en el cuerpo. Aunque los ácidos nucleicos también contienen nitrógeno, la proteína es la principal fuente dietética de nitrógeno y la medida de la ingesta total de nitrógeno da una buena estimación de la ingesta de proteínas (mgN × 6.25 = mg de proteína, ya que N es 16% de la mayoría de las proteínas). La salida de N del cuerpo se encuentra principalmente en la urea y las cantidades menores de otros compuestos en la orina, las proteínas no digeridas (incluidas las enzimas digestivas y el desprendimiento de las células de la mucosa intestinal) en las heces; también cantidades significativas pueden perderse en el sudor y en el desprendimiento de la piel. La diferencia entre la ingesta y la producción de compuestos nitrogenados se conoce como **equilibrio de nitrógeno**. Se pueden definir tres estados. En un adulto sano, hay el **equilibrio** de nitrógeno; la entrada es igual a la producción y esto no cambia el contenido corporal total de proteína. En un niño en crecimiento, una mujer embarazada o una persona en recuperación de la pérdida de proteínas, la excreción de compuestos nitrogenados es menor que la ingesta en la dieta y existe una retención neta de nitrógeno en el cuerpo como proteína, **balance de nitrógeno positivo**. En respuesta a un trauma o infección, o si la ingesta de proteína es inadecuada para satisfacer los requerimientos, existe una pérdida neta de nitrógeno proteico en el cuerpo, **balance de nitrógeno negativo**. Excepto cuando se reemplazan las proteínas perdidas, el equilibrio de nitrógeno se puede mantener con cualquier nivel de ingesta de proteínas por encima de los requisitos. Por otra parte, una alta ingesta de proteína no conduce a un balance de nitrógeno positivo; aunque aumenta la tasa de síntesis de proteínas, también aumenta la tasa de proteína en el catabolismo, de modo que se mantenga el equilibrio de nitrógeno, aunque con una mayor tasa de recambio proteico. Tanto la síntesis de proteínas y el catabolismo son costosos en cuanto al ATP, y este aumento en la tasa de recambio proteico explica el incremento de la termogénesis inducida por la dieta visto en personas que consumen una dieta alta en proteínas.

El catabolismo continuo de las proteínas tisulares crea un requerimiento de proteínas en la dieta, incluso en un adulto que no está en crecimiento; aunque algunos de los aminoácidos liberados pueden ser reutilizados, estos se usan mucho para la gluconeogénesis en el estado de ayuno. Los estudios de balance de nitrógeno muestran que el requerimiento promedio diario es de 0.66 g de proteína por kg de peso corporal (dando una ingesta de referencia

de 0.825 g de proteína/kg de peso corporal, lo que admite la variación individual); ~55 g/d, o 8 a 9% de consumo de energía. La ingesta media de proteínas en los países desarrollados es del orden de 80 a 100 g/d; es decir, 14 a 15% consumo de energía. Debido a que los niños en crecimiento tienen aumento de las proteínas en el cuerpo, además un requerimiento proporcionalmente mayor que los adultos y deben poseer un balance de nitrógeno positivo. Con todo, la necesidad es relativamente pequeña en comparación con el requerimiento para la renovación proteica. En algunos países, la ingesta de proteínas es inadecuada para cumplir con estos requisitos, lo que resulta en el retraso en el crecimiento. Hay poca o ninguna evidencia de que los atletas y fisicoculturistas requieran grandes cantidades de proteína; sólo consumen más de una dieta normal que proporciona alrededor de 14% de la energía a partir de las proteínas, entonces se proporcionará más que suficiente proteína para aumentar la síntesis de proteína muscular: el requisito principal está en el aumento de la ingesta de energía para permitir una mayor síntesis de proteínas.

Existe una pérdida de proteína corporal en respuesta al trauma y la infección

Una de las reacciones metabólicas a un trauma mayor como una quemadura, una extremidad rota o una cirugía, es un aumento en la red del catabolismo de las proteínas tisulares, tanto en respuesta a las citoquinas y hormonas glucocorticoides y como resultado de la excesiva utilización de la treonina y la cisteína en la síntesis de **proteínas de fase aguda**. Tanto como 6 a 7% del total de la proteína corporal puede perderse durante 10 días. El reposo prolongado en la cama da como resultado una pérdida considerable de proteína debido a la atrofia de los músculos. El catabolismo proteico puede aumentar en respuesta a las citoquinas y sin el estímulo del ejercicio no es reemplazado por completo. La pérdida de proteína se reemplaza durante la convalecencia cuando hay un balance de nitrógeno positivo. De nuevo, como en el caso de los atletas, una dieta normal es adecuada para permitir esta síntesis de proteínas de reemplazo.

El requerimiento no es sólo de proteína, sino de aminoácidos específicos

No todas las proteínas son nutricionalmente equivalentes. Existen mayores cantidades de algunas que de otras necesarias para mantener el equilibrio de nitrógeno porque diferentes proteínas contienen diferentes cantidades de los diversos aminoácidos. El requerimiento del cuerpo de los aminoácidos está en proporciones correctas para reemplazar las proteínas del tejido. Los aminoácidos pueden dividirse en dos grupos: **esencial** y **no esencial**. De esta forma, son nueve aminoácidos esenciales o indispensables que no pueden ser sintetizados en el cuerpo: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Si uno de estos es insuficiente o inadecuado, entonces de manera independiente a la ingesta total de proteína, no será posible mantener el balance de nitrógeno porque no habrá suficiente de ese aminoácido para la síntesis de las proteínas.

De forma que dos aminoácidos, la cisteína y la tirosina, se pueden sintetizar en el cuerpo, pero sólo a partir de precursores de aminoácidos esenciales: la cisteína de la metionina y la tirosina de la fenilalanina. Las ingestas en la dieta de la cisteína y la tirosina afectan así los requerimientos para la metionina y la fenilalanina. Los restantes 11 aminoácidos en las proteínas son considerados como no esenciales o prescindibles porque pueden sintetizarse siempre que hay suficiente proteína total en la dieta. Si uno de estos aminoácidos se omite de la dieta, el balance de nitrógeno aún puede ser mantenido. Sin embargo, sólo tres aminoácidos: la alanina, el aspartato, y el glutamato, se puede considerar realmente dispensables; ellos son sintetizados por transaminación de intermediarios metabólicos comunes (piruvato, oxaloacetato y cetoglutarato, respectivamente). Los aminoácidos restantes se consideran como no esenciales, pero bajo algunas circunstancias el requerimiento puede superar la capacidad de dicha síntesis.

RESUMEN

- La digestión consiste en hidrolizar las moléculas de alimentos en pequeñas moléculas para la absorción a través del epitelio gastrointestinal. Los polisacáridos se absorben como monosacáridos, los triacilgliceroles como 2–monoacilgliceroles, los ácidos grasos y el glicerol, así como las proteínas en aminoácidos y péptidos pequeños.
- Los trastornos digestivos surgen como resultado de 1) deficiencia de enzimas, por ejemplo, lactasa y sacarasa; 2) malabsorción, por ejemplo, de glucosa y galactosa como resultado de defectos en el cotransportador de Na^+-glucosa (SGLT 1); 3) absorción de polipéptidos no hidrolizados que conducen a las respuestas inmunes, por ejemplo, como en la enfermedad celíaca; y 4) precipitación del colesterol de la bilis como cálculos biliares.
- Además del agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (carbohidratos y grasas) para el crecimiento y la actividad del cuerpo, proteína para la síntesis de proteínas tisulares, fibra para el contenido de la masa en el intestino, minerales para las funciones metabólicas específicas (véase *c*apítulo 44), ácidos grasos poliinsaturados de las familias n–3 y n–6 y las vitaminas, compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para otras funciones esenciales (véase *c*apítulo 44).
- La desnutrición ocurre en dos formas extremas: el marasmo en los adultos y los niños; y el kwashiorkor en los niños. La enfermedad crónica también puede conducir a la desnutrición (caquexia) como resultado del hipermetabolismo.
- La sobrenutrición conduce a una ingesta excesiva de energía y se asocia con enfermedades crónicas no transmisibles como la obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis, cáncer e hipertensión.
- Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de las proteínas de los cuales nueve son esenciales en la dieta humana. La cantidad de proteína requerida puede ser determinada por estudios de equilibrio del nitrógeno y se ve afectada por la calidad de la proteína: las cantidades de aminoácidos esenciales presentes en las proteínas de la dieta en comparación con las cantidades requeridas para la síntesis de proteína tisular.

CAPÍTULO

Micronutrientes: vitaminas y minerales

44

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de::

- Describir cómo se determinan las ingestas de referencia para las vitaminas y los minerales; explicar por qué difieren las ingestas de referencia publicadas por distintas autoridades nacionales e internacionales.
- Definir una vitamina y describir el metabolismo, las funciones principales, las enfermedades de deficiencia asociadas con la ingesta inadecuada y la toxicidad de las ingestas excesivas de las vitaminas.
- Explicar por qué se requieren sales minerales en la dieta.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las vitaminas son un grupo de nutrientes orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para una variedad de funciones bioquímicas que, por lo general, no pueden ser sintetizadas por el cuerpo, de modo que deben ser suministradas en la dieta.

Las vitaminas liposolubles son compuestos hidrófobos que se pueden absorber de manera eficiente sólo cuando hay una absorción normal de grasa. Estas al igual que otros lípidos, se transportan en la sangre en las lipoproteínas o se fusionan a las proteínas específicas de unión. Además tienen diversas funciones, por ejemplo, la vitamina A que interviene en la visión y la diferenciación celular; la vitamina D en el metabolismo del calcio y del fosfato, así como la diferenciación celular; la vitamina E como antioxidante; y la vitamina K influye en la coagulación de la sangre. Además, la insuficiencia dietética crea las condiciones que afectan la digestión y la absorción de las vitaminas liposolubles como una dieta muy baja en grasas, esteatorrea y trastornos del sistema biliar que pueden conducir a síndromes de deficiencia incluida la ceguera nocturna y la xeroftalmia (vitamina A); el raquitismo en niños pequeños y la osteomalacia en adultos (vitamina D); los trastornos neurológicos y la anemia hemolítica del recién nacido (vitamina E); y también la enfermedad hemorrágica del recién nacido (vitamina K). La toxicidad puede ser el resultado de la ingesta excesiva de las vitaminas A y D. La vitamina A y los carotenos (estos últimos son considerados los precursores de la vitamina A) y la vitamina E son antioxidantes (véase el capítulo 45) tienen un posible papel en la prevención de la aterosclerosis y el cáncer, aunque en exceso también pueden actuar como prooxidantes dañinos.

Las vitaminas hidrosolubles son las vitaminas B y C, el ácido fólico, la biotina y el ácido pantoténico; funcionan principalmente como cofactores enzimáticos. El ácido fólico actúa como portador de unidades de un solo carbono. La deficiencia de una sola vitamina del complejo B es rara dado que las dietas deficientes se asocian más con **estados de deficiencia múltiple**. Sin embargo, los síndromes específicos son característicos de deficiencias de vitaminas individuales, por ejemplo, el beriberi (tiamina); la queilosis, la glositis, la seborrea (riboflavina); la pelagra (niacina); la anemia megaloblástica, aciduria metilmalónica y la anemia perniciosa (vitamina B_{12}); la anemia megaloblástica (ácido fólico); y el escorbuto (vitamina C).

Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo se deben proporcionar en la dieta. Cuando la ingesta es insuficiente, pueden aparecer signos de deficiencia, por ejemplo, la anemia (hierro) y el cretinismo y el bocio (yodo), por lo que el consumo excesivo puede ser tóxico.

La determinación de los requerimientos de micronutrientes depende de la elección de los criterios de adecuación

Para cualquier nutriente, hay un rango de ingesta y alcanzar el inadecuado, conlleva a la **enfermedad por deficiencia clínica**, y se considera superior a la capacidad metabólica del cuerpo con signos de **toxicidad**. Entre estos dos extremos se encuentra un nivel de ingesta adecuado para la salud normal y el mantenimiento de la integridad metabólica. Los requerimientos se determinan en los estudios de agotamiento y repleción, en los cuales las personas se ven privadas del nutriente hasta que se produce un cambio metabólico, luego se reponen con el nutriente hasta que dicha anormalidad se regularice. Las personas no tienen los mismos requerimientos de nutrientes, incluso cuando se calcula sobre la base del tamaño corporal o el gasto de energía. Existe una gama de requerimientos individuales de hasta 25% en torno a la media. Por tanto, para evaluar la adecuación de las dietas, es necesario establecer un nivel de referencia de ingesta lo suficientemente alto como

para garantizar que nadie sufra deficiencia o esté en riesgo de toxicidad. Si se supone que los requerimientos individuales se distribuyen de manera estadística normal con relación en los requerimientos medios observados, un rango de ± 2 × la desviación estándar (SD, *standard deviation*) alrededor de la media incluye los requisitos de 95% de la población. De modo que, las ingestas de referencia o recomendadas establecen el requisito promedio más 2 × SD, por lo que cumplen o exceden los requerimientos de 97.5% de la población.

Las referencias e ingestas recomendadas de vitaminas y minerales publicadas por diferentes autoridades nacionales e internacionales difieren debido a las diferentes interpretaciones de los datos disponibles y la disponibilidad de nuevos datos experimentales en publicaciones más recientes.

LAS VITAMINAS SON UN GRUPO DISPONIBLE DE COMPUESTOS CON UNA GRAN VARIEDAD DE FUNCIONES METABÓLICAS

Una vitamina se define como un compuesto orgánico que se requiere en la dieta con pequeñas cantidades para el mantenimiento de la integridad metabólica normal. La deficiencia causa una enfermedad específica, que se cura o previene sólo restaurando la vitamina en la dieta (**cuadro 44-1**). Sin embargo, **la vitamina D**, que se forma en la piel a partir del 7–dehidrocolesterol con exposición a la luz solar, y la **niacina**, que puede formarse a partir del aminoácido esencial triptófano, no cumplen de forma estricta con esta definición.

CUADRO 44-1 Las vitaminas

Vitamina		Funciones	Enfermedad debido a la deficiencia
Soluble en lípidos			
A	Retinol, β–caroteno	Pigmentos visuales en la retina; regulación de la expresión génica y la diferenciación celular (el β-caroteno es un antioxidante)	Ceguera nocturna, xeroftalmia; queratinización de la piel
D	Calciferol	Mantenimiento del equilibrio del calcio; mejora la absorción intestinal del Ca^{2+} y moviliza el mineral óseo; regulación de la expresión génica y diferenciación celular	Raquitismo = pobre mineralización del hueso en los niños; osteomalacia = desmineralización ósea en adultos
E	Tocoferoles, tocotrienoles	Antioxidante, especialmente en membranas celulares; roles en la señalización celular	Disfunción neurológica extremadamente rara y grave
K	Filoquinona: menaquinonas	Coenzima en la formación del γ–carboxiglutamato en enzimas de la coagulación de la sangre y la matriz ósea	Coagulación sanguínea alterada, enfermedad hemorrágica
Soluble en agua			
B_1	Tiamina	Coenzima en piruvato y α-cetoglutarato deshidrogenasas, y transcetolasa; regula el canal del Cl^- en la conducción nerviosa	Lesión del nervio periférico (beriberi) o lesiones del sistema nervioso central (síndrome Wernicke-Korsakoff)
B_2	Riboflavina	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción (FAD y FMN); grupo prostético de flavoproteínas	Lesiones de la esquina de la boca, los labios y la lengua, dermatitis seborreica
Niacina	Ácido nicotínico, nicotinamida	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción, parte funcional del NAD y NADP; papel en la regulación intracelular del calcio y señalización celular	Pelagra-dermatitis fotosensible, psicosis depresiva
B_6	Piridoxina, piridoxal, piridoxamina	Coenzima en transaminación y descarboxilación de aminoácidos y glucógeno fosforilasa; modulación de la acción de la hormona esteroide	Trastornos del metabolismo de aminoácidos, convulsiones
	Ácido fólico	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono	Anemia megaloblástica
B_{12}	Cobalamina	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono y metabolismo del ácido fólico	Anemia perniciosa = anemia megaloblástica con degeneración de la médula espinal
	Ácido pantoténico	Parte funcional de la proteína transportadora de CoA y acilo: síntesis y metabolismo de ácidos grasos	Daño al nervio periférico (melalgia nutricional o "síndrome del pie ardiente")
H	Biotina	Coenzima en reacciones de carboxilación en gluconeogénesis y síntesis de ácidos grasos; papel en la regulación del ciclo celular	Metabolismo de grasas y carbohidratos dañados, dermatitis
C	Ácido ascórbico	Coenzima en hidroxilación de prolina y lisina en síntesis de colágeno; antioxidante; mejora la absorción de hierro	Escorbuto-deterioro de la cicatrización de heridas, pérdida del cemento dental, hemorragia subcutánea

VITAMINAS SOLUBLES EN LÍPIDOS

DOS GRUPOS DE COMPUESTOS TIENEN ACTIVIDAD DE VITAMINA A

Los retinoides se componen por retinol, retinaldehído y ácido retinoico (vitamina A preformada que se encuentra sólo en los alimentos de origen animal); los carotenoides, que se encuentran en las plantas son una variedad de carotenos y compuestos relacionados; muchos son precursores de la vitamina A, porque pueden escindirse para producir retinaldehído, luego retinol y ácido retinoico (**figura 44-1**). Los α–, β–, y γ–carotenos y la criptoxantina son cuantitativamente la provitamina A más importantes de los carotenoides. El β–caroteno y otros carotenoides provitamina A se escinden en la mucosa intestinal por la caroteno dioxigenasa, produciendo el retinaldehído, que se reduce a retinol, se esterifica y secreta en quilomicrones junto con los ésteres formados a partir del retinol de la dieta. La actividad intestinal de la caroteno dioxigenasa es baja, por lo que una proporción relativamente grande de β-caroteno ingerido puede aparecer sin cambios en la circulación. Hay dos isoenzimas de caroteno dioxigenasa. Una cataliza la escisión del enlace central del β-caroteno; la otra cataliza la escisión asimétrica que conduce a la formación de 8'-, 10'- y 12'-apo-carotenales, que se oxidan a ácido retinoico, pero no pueden utilizarse como fuentes del retinol o del retinaldehído.

Aunque parece que una molécula de β-caroteno debería producir dos de retinol, esto no es así en la práctica; 6 μg de β-caroteno es equivalente a 1 μg de retinol preformado. Por tanto, la cantidad total de vitamina A en los alimentos se expresa como microgramos de equivalentes de retinol = μg de vitamina A preformada + 1/6 × μg de β-caroteno + 1/12 × μg de otros carotenoides de la provitamina A. Antes de que la vitamina A pura estuviera disponible para el análisis químico, el contenido de la vitamina A de los alimentos se determinaba mediante análisis biológicos y los resultados se expresaban como unidades internacionales (IU, *international units*). 1 IU=0.3 μg de retinol; 1 μg de retinol = 3.33 IU. Aunque obsoleto, IU todavía se utiliza en el etiquetado de alimentos. El término de **equivalente de actividad del retinol** tiene en cuenta la absorción incompleta y el metabolismo de los carotenoides; 1 RAE = 1 μg de todo-*trans*-retinol, 12 μg de β-caroteno, 24 μg de α-caroteno o β-criptoxantina. Sobre esta base, 1 IU de actividad de la vitamina A equivale a 3.6 μg de β-caroteno o 7.2 μg de otros carotenoides de provitamina A.

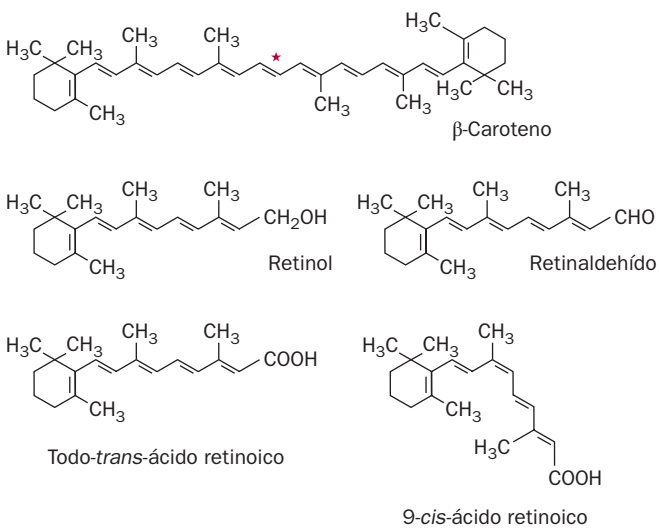


FIGURA 44-1 El β-caroteno y los principales vitámeros de la vitamina A. El asterisco muestra el sitio de la división simétrica del β-caroteno por la caroteno dioxigenasa para producir retinaldehído.

La vitamina A tiene una función en la visión

En la retina, el retinaldehído funciona como el grupo protésico de las proteínas opsinas sensibles a la luz formando la rodopsina (en barras) y la yodopsina (en conos). Cualquier célula de cono contiene sólo un tipo de opsina y es sensible a un solo color. En el epitelio pigmentario de la retina, el todo-*trans*–retinol se isomeriza a 11-cis-retinol y se oxida a 11-cis-retinaldehído. Esto reacciona con un residuo de lisina en la opsina, formando la holoproteína rodopsina. Como se muestra en la **figura 44-2**, la absorción de la luz por la rodopsina causa la isomerización del retinaldehído de 11-*cis* a todo-*trans* y un cambio conformacional en la opsina. Lo cual da como resultado la liberación del retinaldehído de la proteína y el inicio de un impulso nervioso. La formación de la forma excitada inicial de la rodopsina, la batorodopsina, se produce dentro de unos pocos picosegundos de iluminación. Entonces hay una serie de cambios conformacionales que conducen a la formación de la metarodopsina II, que inicia una cascada de amplificación de nucleótidos de guanina y luego un impulso nervioso. El último paso es la hidrólisis para liberar el todo-*trans*-retinaldehído y la opsina. La clave para iniciar el ciclo visual es la disponibilidad de 11-*cis*-retinaldehído, y por consiguiente la vitamina A. En la deficiencia, tanto el tiempo requerido para adaptarse a la oscuridad como la capacidad de ver con poca luz se encuentran afectados.

El ácido retinoico tiene un papel en la regulación de la expresión génica y la diferenciación tisular

Una función principal de la vitamina A es el control de la diferenciación celular y la renovación. El ácido todo–*trans*-retinoico y el ácido 9–*cis*–retinoico (**figura 44-1**) regulan el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación tisular; ellos tienen diferentes acciones en los diferentes tejidos. Al igual que las hormonas tiroides y esteroides, así como la vitamina D, el ácido retinoico se fusiona a los receptores nucleares que se unen a los elementos de respuesta del ADN y regulan la transcripción de genes específicos. Hay dos familias de receptores de retinoides nucleares: los receptores del ácido retinoico (RAR, *retinoic acid receptors*) se unen al ácido retinoico-*trans* o al ácido 9-*cis*-retinoico, y los receptores de retinoides X (RXR, *retinoid X receptors*) se combina al ácido 9-*cis*-retinoico. Los RXR también forman dímeros con la vitamina D, la hormona de la tiroides y otros receptores de acción nuclear. La deficiencia de la vitamina A disminuye la función de la vitamina D y de la hormona tiroidea debido a la falta de ácido 9–*cis*–retinoico para formar dímeros de receptores activos. Los RXR desocupados forman dímeros con la vitamina D ocupada con los receptores de la hormona tiroidea, no sólo no activan la expresión génica, sino que la reprimen, por lo que la deficiencia de vitamina A tiene un efecto más severo sobre la vitamina D y la función de la hormona tiroidea que simplemente no activar la expresión génica. El exceso de vitamina A también altera la vitamina D y la función de la hormona tiroidea debido a la formación de homodímeros RXR, lo que significa que no hay sufi-

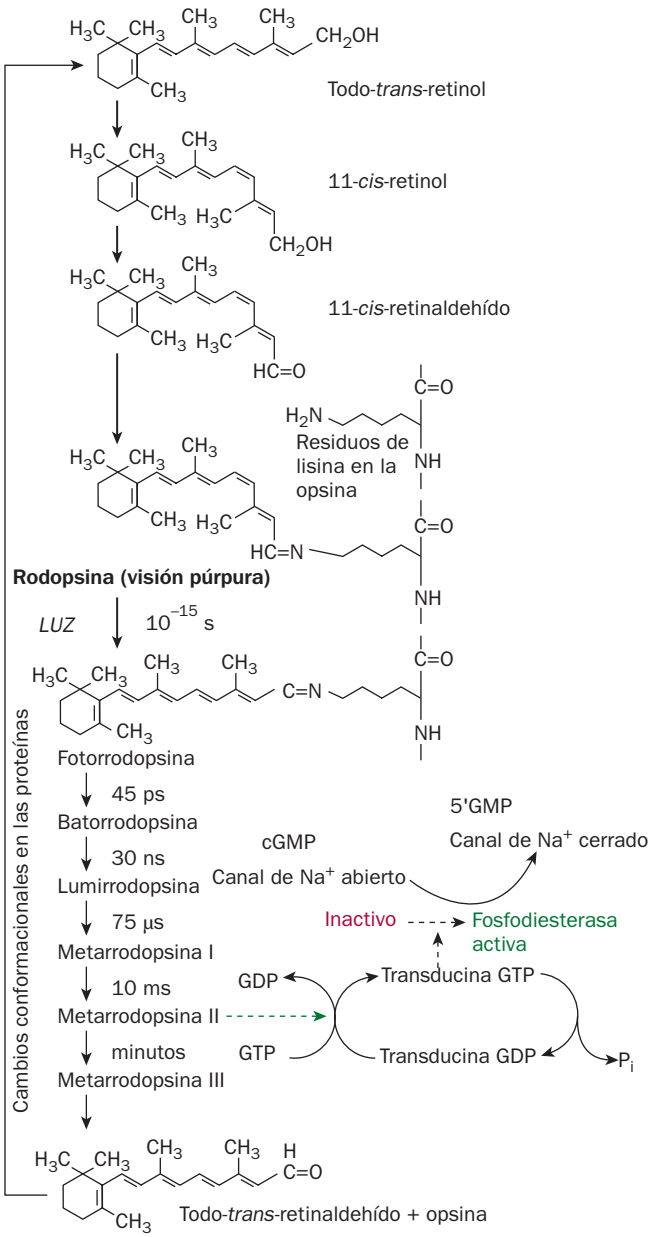


FIGURA 44-2 **El papel del retinaldehído en el ciclo visual.**

ciente RXR disponible para formar heterodímeros con los receptores de la vitamina D y la hormona tiroidea.

La deficiencia de vitamina A es un gran problema de salud pública en todo el mundo

La deficiencia de vitamina A es la causa prevenible más importante de la ceguera. El primer signo de deficiencia es una pérdida de sensibilidad a la luz verde, seguida por un deterioro para adaptarse a la luz tenue, luego la ceguera nocturna, una incapacidad para ver en la oscuridad. Una deficiencia más prolongada conduce a la **xeroftalmía**: la queratinización de la córnea y la ceguera. La vitamina A también tiene un papel importante en la diferenciación de las células del sistema inmunitario e incluso la deficiencia leve conduce a una mayor susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. La síntesis de la proteína de unión al retinol, que se requiere para transportar la vitamina en el torrente sanguíneo, se reduce en respuesta a la infección (es una **proteína de fase aguda negativa**), disminuyendo la concentración circulante de la vitamina y deteriorando aún más la respuesta inmune.

La vitamina A es tóxica en exceso

Sólo hay una capacidad limitada para metabolizar la vitamina A, y el consumo excesivo conduce a la acumulación más allá de la capacidad de las proteínas de unión intracelular; la vitamina A no ligada causa lisis de la membrana y daño tisular. Los síntomas de toxicidad afectan el sistema nervioso central (dolor de cabeza, náuseas, ataxia y anorexia, todos asociados con una mayor presión del líquido cefalorraquídeo); al hígado (hepatomegalia con cambios histológicos e hiperlipidemia); la homeostasis del calcio (engrosamiento de los huesos largos, hipercalcemia y calcificación de los tejidos blandos); y en la piel (sequedad excesiva, descamación y alopecia).

LA VITAMINA D ES REALMENTE UNA HORMONA

La vitamina D no es estrictamente una vitamina, puesto que se puede sintetizar en la piel y, en la mayoría de los casos, esta es la principal fuente de esta vitamina. Sólo cuando la exposición a la luz solar es inadecuada se requiere una fuente dietética. La función principal de esta vitamina es la regulación de la absorción del calcio y la homeostasis; la mayoría de sus acciones están mediadas por receptores nucleares que precisan la expresión génica. También tiene un papel en la regulación de la proliferación y la diferenciación celular. Existe evidencia de que las ingestas considerablemente más altas a las requeridas para mantener la homeostasis del calcio reducen el riesgo de resistencia a la insulina, la obesidad y el síndrome metabólico, así como también varios cánceres. La deficiencia, que provoca raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos, sigue siendo un problema en las latitudes septentrionales, donde la exposición a la luz solar es inadecuada.

La vitamina D se sintetiza en la piel

El 7–dehidrocolesterol (un intermediario en la síntesis del colesterol que se acumula en la piel) experimenta una reacción no enzimática al exponerse a la luz ultravioleta produciendo previtamina D (**figura 44-3**). Esta se somete a una reacción adicional durante un periodo de horas para formar colecalciferol, que se absorbe en el torrente sanguíneo. En climas templados, la concentración plasmática de vitamina D es más alta al final del verano y más baja al final del invierno. Más allá de latitudes de aproximadamente 40° norte o sur, hay muy poca radiación ultravioleta en invierno de la longitud de onda apropiada.

La vitamina D se metaboliza al metabolito activo, calcitriol, en el hígado y el riñón

El colecalciferol, ya sea sintetizado en la piel o a partir de los alimentos, se somete a dos hidroxilaciones para producir el metabolito activo, la 1,25–dihidroxivitamina D o el calcitriol (**figura 44-4**).

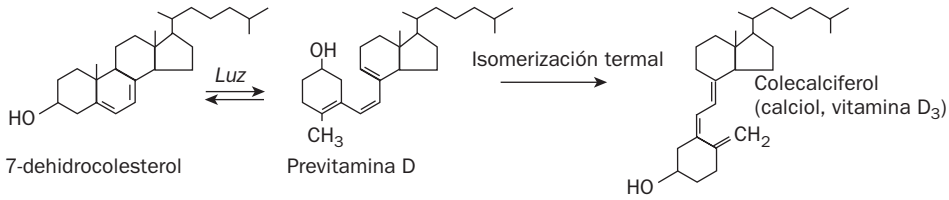


FIGURA 44-3 **La síntesis de vitamina D en la piel.**

El ergocalciferol de los alimentos fortificados se somete a una hidroxilación similar para rendir ercalcitriol. En el hígado, el colecalciferol se hidroxila para formar el derivado 25–hidroxi, calcidiol. Este se libera en la circulación unido a una globulina que se une a la vitamina D, que es la principal forma de almacenamiento de la vitamina. En el riñón, el calcidiol se somete o bien a 1–hidroxilación para producir el metabolito activo 1,25–dihidroxivitamina D (calcitriol), o 24–hidroxilación para producir un metabolito probablemente inactivo, 24,25–dihidroxivitamina D (24–hidroxicalcidiol). Algunos tejidos, además de los que están involucrados en la homeostasis del calcio, absorben el calcidiol de la circulación y sintetizan el calcitriol que actúa dentro de esa célula.

El metabolismo de la vitamina D está regulado y modera la homeostasis del calcio

La función principal de la vitamina D es controlar la homeostasis del calcio y, a su vez, el metabolismo de la vitamina D está regulado por factores que responden a las concentraciones plasmáticas del calcio y el fosfato. El calcitriol actúa para reducir su propia síntesis al inducir la 24–hidroxilasa y reprimir la 1–hidroxilasa en el riñón. La función principal de la vitamina D es mantener la concentración de calcio en el plasma. El calcitriol logra esto de tres maneras: aumenta la absorción intestinal del calcio; reduce la excreción del calcio (estimulando la reabsorción en los túbulos renales distales); y moviliza el mineral óseo. Además, el calcitriol está involucrado en la secreción de la insulina, la síntesis y secreción de hormonas paratiroideas y tiroideas, la inhibición de la producción de interleuquina por los linfocitos T activados y de la inmunoglobulina por linfocitos B activados, la diferenciación de las células precursoras de los monocitos y la modulación de la proliferación celular. En la mayoría de estas acciones, actúa como una hormona esteroidea, se une a los receptores nucleares y mejora la expresión génica, aunque también tiene un efecto rápido para movilizar transportadores de calcio en la mucosa intestinal.

Mayores ingestas de vitamina D pueden ser beneficiosas

Cada vez hay más pruebas de que un mayor nivel de vitamina D es útil contra diversos cánceres, incluido el cáncer de próstata y colorrectal, y también contra la prediabetes y el síndrome metabólico. Los niveles deseables de la ingesta pueden ser considerablemente más altos que las ingestas de referencia actuales, y es cierto que no se pueden satisfacer con alimentos no fortificados. Si bien una mayor exposición a la luz del Sol cubriría la necesidad, conlleva el riesgo de desarrollar cáncer de piel.

La deficiencia de vitamina D afecta a niños y adultos

En el raquitismo, debido a la deficiencia de vitamina D, los huesos de los niños no se mineralizan como consecuencia de la mala absorción de calcio. Un problema similar ocurre como un resultado de la deficiencia durante el crecimiento adolescente acelerado. La **osteomalacia** en adultos resulta de la desmineralización del hueso,

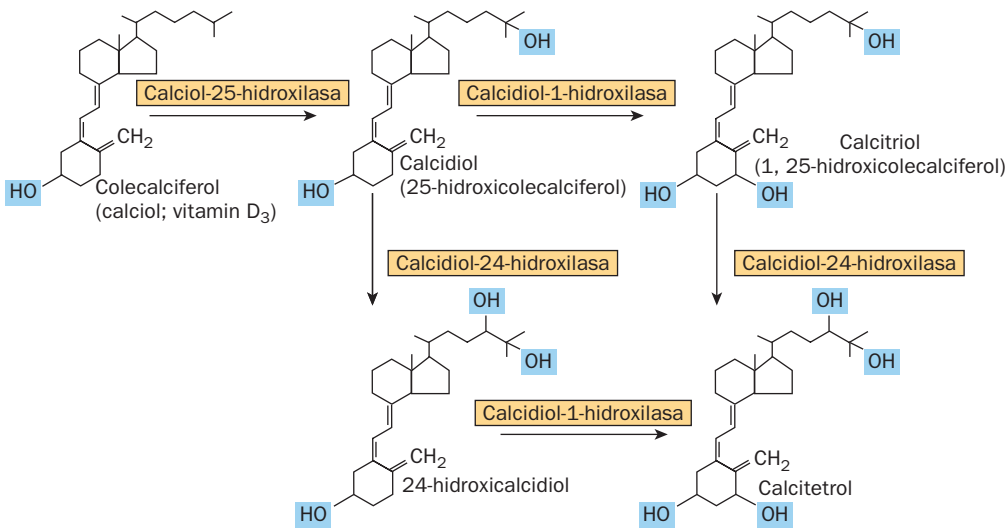


FIGURA 44-4 **Metabolismo de la vitamina D.**

especialmente en mujeres que tienen poca exposición a la luz solar con la característica común de después de varias preñeces. Aunque la vitamina D es esencial para la prevención y el tratamiento de la osteomalacia en los ancianos, hay menos pruebas de que sea beneficiosa en el tratamiento de la **osteoporosis**.

La vitamina D es tóxica en exceso

Algunos bebés son sensibles a la ingesta de vitamina D tan baja como 50 µg/d, lo que resulta en una concentración plasmática elevada de calcio. Esto puede conducir a la contracción de los vasos sanguíneos, la presión arterial alta y la **calcinosis**: la calcificación de los tejidos blandos. En al menos algunos casos, la hipercalcemia en respuesta a la baja ingesta de vitamina D se debe a defectos genéticos de la calcidiol 24–hidroxilasa, la enzima que conduce a la inactivación de la vitamina. Aunque el exceso de vitamina D en la dieta es tóxico, la exposición excesiva a la luz solar no conduce a la intoxicación por la vitamina D, porque hay una capacidad limitada para formar el precursor, 7–dehidrocolesterol y la exposición prolongada de la previtamina D a la luz solar conduce a la formación de compuestos inactivos.

LA VITAMINA E NO TIENE UNA FUNCIÓN METABÓLICA PRECISAMENTE DEFINIDA

No se ha definido ninguna función inequívoca única para la vitamina E. Puesto que actúa como un **antioxidante** liposoluble en las membranas celulares, donde muchas de sus funciones pueden ser proporcionadas por antioxidantes sintéticos, y es importante para mantener la fluidez de las membranas celulares. También tiene un papel (poco definido) en la señalización celular. La vitamina E es el descriptor genérico para dos familias de compuestos: los **tocoferoles** y los **tocotrienoles** (**figura 44-5**). Los diferentes vitámeros tienen diferentes potencias biológicas; el más activo es el D–α–tocoferol, y es habitual expresar la ingesta de vitamina E en términos de miligramos equivalentes de D–α–tocoferol. El DL–α–tocoferol sintético no tiene la misma potencia biológica que el compuesto de origen natural.

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas

La función principal de la vitamina E es romper la cadena y atrapar radicales libres en las membranas celulares y las lipoproteínas del plasma al reaccionar con los radicales del peróxido lipídico formados por la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (véase capítulo 45). El radical tocoferoxil es relativamente no reactivo, y forma compuestos no radicales. Por lo regular, el radical tocoferoxil se reduce de nuevo a tocoferol por reacción con la vitamina C del plasma. El radical de monodiescobato de estaño resultante experimenta una reacción enzimática o no enzimática para producir ascorbato y deshidroascorbato, ninguno de los cuales es un radical.

Deficiencia de vitamina E

En los animales de experimentación, la deficiencia de la vitamina E da como resultado la resorción de los fetos y la atrofia testicular.

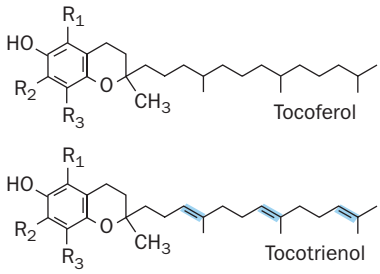


FIGURA 44-5 Los vitámeros de la vitamina E. El α–tocoferol y el tocotrienol R_1, R_2 y R_3 son grupos todos–CH_3. En los β–vitámeros R_2 es H, en los γ–vitámeros R_1 es H, y en los δ–vitámeros R_1 y R_2 son ambos H.

Se desconoce la deficiencia dietética de vitamina E en los seres humanos, aunque los pacientes con grave malabsorción de la grasa, fibrosis quística y algunas formas de enfermedad hepática crónica padecen de deficiencia porque no pueden absorber ni transportar dicha vitamina, lo que provoca daños en la membrana nerviosa y muscular. Los bebés prematuros nacen con reservas inadecuadas de esta vitamina. Las membranas de los eritrocitos son anormalmente frágiles como resultado de la peroxidación de los lípidos, lo que conduce a la anemia hemolítica.

LA VITAMINA K ES NECESARIA PARA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA

La vitamina K se descubrió como resultado de las investigaciones sobre la causa de un trastorno de la coagulación, la enfermedad hemorrágica (trébol dulce) del ganado y los pollos alimentados con una dieta libre de grasas. El factor que faltaba en la dieta de los pollos era la vitamina K, mientras que la alimentación del ganado contenía **dicumarol**, un antagonista de la vitamina. Los antagonistas de la vitamina K se usan para reducir la coagulación sanguínea en pacientes con riesgo de trombosis; el más utilizado es la **warfarina**.

Existen tres compuestos con la actividad biológica de la vitamina K (**figura 44-6**): la **filoquinona**, la fuente dietética normal se encuentra en los vegetales verdes; las **menaquinonas**, sintetizadas por bacterias intestinales con diferentes longitudes de cadena lateral; y la **menadiona** también el menadiol diacetato, ambos compuestos sintéticos que pueden metabolizarse a filoquinona. Las menaquinonas se absorben hasta cierto punto, pero no es claro hasta qué nivel son biológicamente activas, puesto que es posible inducir signos de deficiencia de la vitamina K simplemente alimentando con una dieta deficiente en filoquinona, sin inhibir la acción bacteriana intestinal.

La vitamina K es la coenzima para la carboxilación del glutamato en la modificación posintética de las proteínas de unión al calcio

La vitamina K es el cofactor para la carboxilación de los residuos de glutamato en la modificación posintética de las proteínas para formar el inusual aminoácido γ– carboxiglutamato (Gla) (**figura 44-7**). Al inicio, la vitamina K hidroquinona se oxida al epóxido,

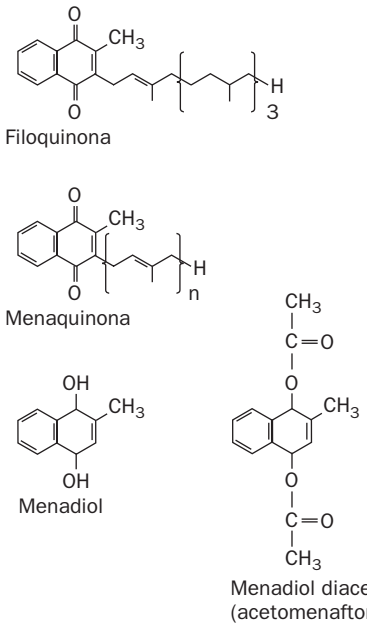


FIGURA 44-6 **Vitámeros de la vitamina K.** El menadiol (o menadiona) y el diacetato de menadiol son compuestos sintéticos que se convierten en menaquinona en el hígado.

que activa un residuo de glutamato en el sustrato de la proteína a un carbanión, que reacciona no enzimáticamente con dióxido de carbono para formar γ–carboxiglutamato. El epóxido de vitamina K se reduce a la quinona mediante una reductasa sensible a la warfarina y la quinona se reduce a la hidroquinona activa por la misma reductasa sensible a warfarina o una quinona reductasa insensible a la warfarina. En presencia de la warfarina, el epóxido de vitamina K no puede reducirse, sino que se acumula y se excreta. Si se proporciona suficiente vitamina K (como la quinona) en la dieta, la enzima insensible a la warfarina puede reducirla a la hidroquinona activa y la carboxilación puede continuar con la utilización estequiométrica de vitamina K y la excreción del epóxido. Una dosis alta de vitamina K es el antídoto contra una sobredosis de warfarina.

La protrombina y varias otras proteínas del sistema de coagulación de la sangre (factores VII, IX y X, y las proteínas C y S, véase capítulo 52) contienen cada una 4 a 6 residuos de γ–carboxiglutamato. El γ–carboxiglutamato quelata los iones de calcio, y así permite la unión de las proteínas que coagulan la sangre a las membranas. En la deficiencia de vitamina K o en presencia de warfarina, se libera a la circulación un precursor anormal de protrombina (preprotrombina) que contiene poco o ningún γ–carboxiglutamato y es incapaz de quelar el calcio.

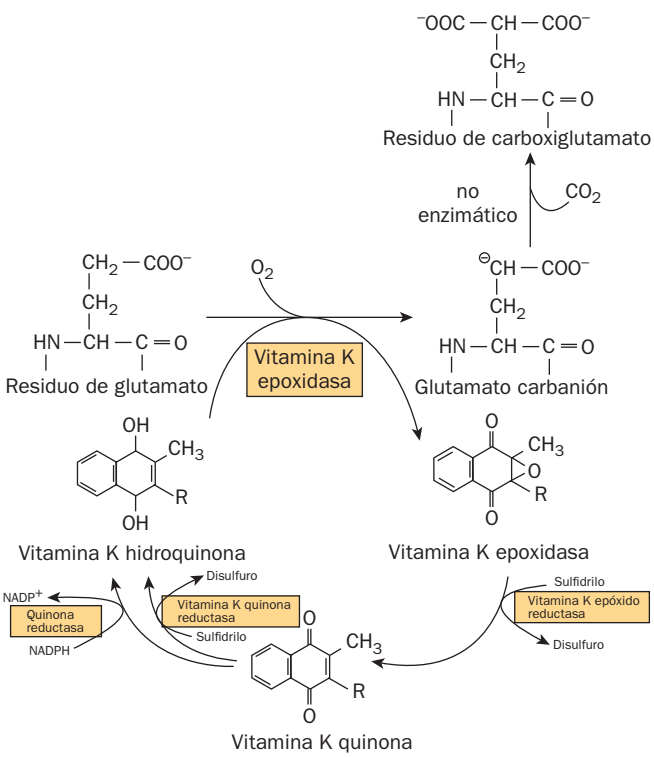


FIGURA 44-7 **El papel de la vitamina K en la síntesis de γ—carboxiglutamato.**

La vitamina K también es importante en la síntesis de proteínas óseas y otras proteínas de unión al calcio

Varias otras proteínas experimentan la misma carboxilación del glutamato dependiente de la vitamina K a γ–carboxiglutamato, incluida la osteocalcina y la proteína Gla de la matriz del hueso, la nefrocalcina en el riñón y el producto del gen Gas6 específico para la detención del crecimiento, que está involucrado tanto en la regulación de la diferenciación y el desarrollo en el sistema nervioso y el control de la apoptosis en otros tejidos. Todas estas proteínas que contienen γ–carboxiglutamato se unen al calcio, lo que provoca un cambio conformacional de modo que interactúan con los fosfolípidos de la membrana. La liberación en la circulación de la osteocalcina proporciona un índice del estado de la vitamina D.

VITAMINAS SOLUBLES EN AGUA

LA VITAMINA B_1 (TIAMINA) TIENE UN PAPEL CLAVE EN EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

La **tiamina** tiene un papel central en el metabolismo que produce energía, y especialmente en el metabolismo de los carbohidratos (**figura 44-8**). El **difosfato de tiamina** es la coenzima de tres complejos multienzimáticos que catalizan reacciones de descarboxilación oxidativa: la piruvato deshidrogenasa en el metabolismo de los carbohidratos (véase capítulo 17); la α–cetoglutarato deshidrogenasa en el ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16); y la cetoácido deshidrogenasa de cadena ramificada implicada en el metabolismo de la leucina, la isoleucina y la valina (véase capítulo 29). En cada caso,

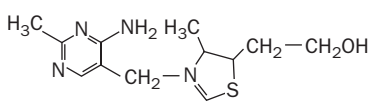


FIGURA 44-8 **Tiamina**.

el difosfato de tiamina proporciona un carbono reactivo en la fracción del tiazol que forma un carbanión, que luego se agrega al grupo carbonilo, por ejemplo, piruvato. El compuesto de adición se descarboxila, eliminando CO_2. El difosfato de tiamina también es la coenzima para la transcetolasa en la vía de la pentosa fosfato (véase capítulo 20).

El trifosfato de tiamina tiene un papel en la conducción nerviosa; fosforila, y así lo activa, un canal de cloruro en la membrana nerviosa.

La deficiencia de tiamina afecta el sistema nervioso y el corazón

La deficiencia de tiamina puede dar lugar a tres síndromes distintos: una neuritis periférica crónica, el **beriberi**, que puede estar o no asociada a la **insuficiencia cardiaca** y el **edema**; el beriberi agudo pernicioso (fulminante) (beriberi Shoshin) en el que predominan la insuficiencia cardiaca y las anomalías metabólicas sin neuritis periférica; y la **encefalopatía de Wernicke** con la **psicosis de Korsakoff** que se asocia especialmente con el abuso del alcohol y los narcóticos. El papel del difosfato de tiamina en la piruvato deshidrogenasa significa que en la deficiencia existe una conversión alterada del piruvato a acetil–CoA. En sujetos con una dieta relativamente alta en carbohidratos, esto da como resultado un aumento de las concentraciones plasmáticas de lactato y piruvato que pueden causar acidosis láctica potencialmente mortal.

El estado nutricional de la tiamina puede evaluarse mediante la activación de la transcetolasa eritrocítica

La activación de la apotranscetolasa (la proteína enzimática) en el lisado de eritrocitos por el agregado de tiamina difosfato *in vitro* se ha convertido en el índice aceptado del estado nutricional de la tiamina.

LA VITAMINA B_2 (RIBOFLAVINA) TIENE UN PAPEL CENTRAL EN EL METABOLISMO DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA

La riboflavina proporciona los restos reactivos de las coenzimas **flavina mononucleótido** (FMN, *flavin mononucleotide*) y **flavina adenina dinucleótido** (FAD, *flavin adenine dinucleotide*) (véase figura 12-2). La FMN está formada por la fosforilación de la riboflavina dependiente del ATP. La FAD se sintetiza por la reacción adicional con el ATP en el que el resto del AMP se transfiere al FMN. Las principales fuentes dietéticas de la riboflavina son la leche y los productos lácteos. Además, debido a su color amarillo intenso, la riboflavina se usa ampliamente como aditivo alimentario.

Las coenzimas flavínicas son portadoras de electrones en las reacciones de oxidorreducción

Estas incluyen la cadena respiratoria mitocondrial, las enzimas clave en la oxidación de los ácidos grasos y los aminoácidos y el ciclo del ácido cítrico. La reoxidación de la flavina reducida en oxigenasas y las oxidasas de función mixta procede por medio de la formación del radical flavin y el hidroperóxido de flavina con la generación intermedia de superóxido, radicales perhidroxilo y peróxido de hidrógeno. Debido a esto, las flavinoxidasas contribuyen de manera significativa al estrés oxidante total en el cuerpo (véase capítulo 45).

La deficiencia de riboflavina es generalizada pero no fatal

Aunque la riboflavina está centralmente involucrada en el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, así como la deficiencia ocurre en muchos países, no es fatal, porque hay una conservación muy eficiente de la riboflavina tisular. La riboflavina liberada por el catabolismo de las enzimas se incorpora de forma rápida a las enzimas recién sintetizadas. La deficiencia se caracteriza por la queilosis, descamación e inflamación de la lengua y dermatitis seborreica. El estado nutricional de la riboflavina se evalúa midiendo la activación de la glutatión reductasa de los eritrocitos mediante FAD añadido *in vitro*.

LA NIACINA NO ES ESTRICTAMENTE UNA VITAMINA

La niacina se descubrió como un nutriente durante los estudios de la pelagra. No es estrictamente una vitamina porque se puede sintetizar en el cuerpo a partir del aminoácido esencial triptófano. Así que dos compuestos, el ácido nicotínico y la **nicotinamida** tienen la actividad biológica de la niacina; su función metabólica es similar al anillo de la nicotinamida de las coenzimas NAD y NADP en las reacciones de oxidación/reducción (véanse figuras 7-2 y 12-4). Cerca de 60 mg de triptófano equivalen a 1 mg de niacina en la dieta. El contenido de niacina de los alimentos se expresa como:

$$\text{mg equivalentes de niacina} = \text{mg de niacina preformada} + 1/60 \times \text{mg de triptófano}$$

Como la mayoría de la niacina en los cereales no está biológicamente disponible, se descuenta.

NAD es la fuente de ADP–ribosa

Además de su función de coenzima, NAD es la fuente de la ADP–ribosa para la **ADP–ribosilación** de proteínas y poliADP–ribosilación de nucleoproteínas implicadas en el mecanismo de la reparación del ADN. La ADP–ribosa cíclica y el ácido nicotínico adenina dinucleótido, formado a partir del NAD, actúan para aumentar el calcio intracelular en respuesta a los neurotransmisores y las hormonas.

La pelagra es causada por la deficiencia de triptófano y niacina

La pelagra se caracteriza por una dermatitis fotosensible. A medida que la condición progresa, hay psicosis depresiva y posiblemente diarrea. La pelagra no tratada es fatal. Aunque la etiología nutricional de la pelagra está bien establecida, y el triptófano o la niacina previenen o curan la enfermedad, factores adicionales incluida la deficiencia de la riboflavina o la vitamina B_6, que son necesarias

para la síntesis de la nicotinamida a partir del triptófano, pueden ser importantes. En la mayoría de los brotes de pelagra, se afectan el doble de mujeres que de hombres, probablemente como resultado de la inhibición del metabolismo del triptófano por metabolitos de los estrógenos.

La pelagra puede ocurrir como resultado de una enfermedad a pesar de una ingesta adecuada de triptófano y niacina

Una serie de enfermedades genéticas que dan como resultado defectos del metabolismo del triptófano se asocian con el desarrollo de la pelagra, a pesar de una ingesta aparentemente adecuada tanto del triptófano como de niacina. La **enfermedad de Hartnup** es un trastorno genético raro en el que existe un defecto del mecanismo de transporte de membrana para el triptófano que produce grandes pérdidas como resultado de la mala absorción intestinal y la insuficiencia de la reabsorción renal. En el **síndrome carcinoide**, hay metástasis de un tumor hepático primario de células enterocromafines que sintetizan 5–hidroxitriptamina. La sobreproducción de 5–hidroxitriptamina puede representar hasta 60% del metabolismo del triptófano en el cuerpo causando la pelagra debido a la desviación de la síntesis de NAD.

La niacina en exceso es tóxica

El ácido nicotínico se ha usado para tratar la hiperlipidemia cuando se requiere en el orden de 1 a 6 g por día causando la dilatación de los vasos sanguíneos y enrojecimiento junto con la irritación de la piel. La ingesta de ácido nicotínico y nicotinamida en exceso de 500 mg/día causa daño hepático.

LA VITAMINA B_6 ES IMPORTANTE EN EL METABOLISMO DE LOS AMINOÁCIDOS Y EL GLUCÓGENO, ASÍ COMO EN LA ACCIÓN DE LAS HORMONAS ESTEROIDES

Existen seis compuestos que poseen actividad de vitamina B_6 (**figura 44-9**): **piridoxina**, **piridoxal**, **piridoxamina** y sus 5′–fosfatos. La coenzima activa es piridoxal 5′–fosfato. Cerca de 80% de la vitamina B_6 total del cuerpo es fosfato de piridoxal en el músculo, principalmente asociado con el glucógeno fosforilasa. Este último no se encuentra disponible en la deficiencia, sino que se libera en la inanición, cuando las reservas de glucógeno se agotan, y luego está disponible, especialmente para el hígado y el riñón, para satisfacer un mayor requerimiento en la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos.

La vitamina B_6 tiene varios roles en el metabolismo

El fosfato de piridoxal es una coenzima para muchas enzimas involucradas en el metabolismo de los aminoácidos, especialmente en la transaminación y la descarboxilación. También es el cofactor de la glucógeno fosforilasa, donde el grupo fosfato es importante de forma catalítica. Además, es imprescindible en la acción de la hormona

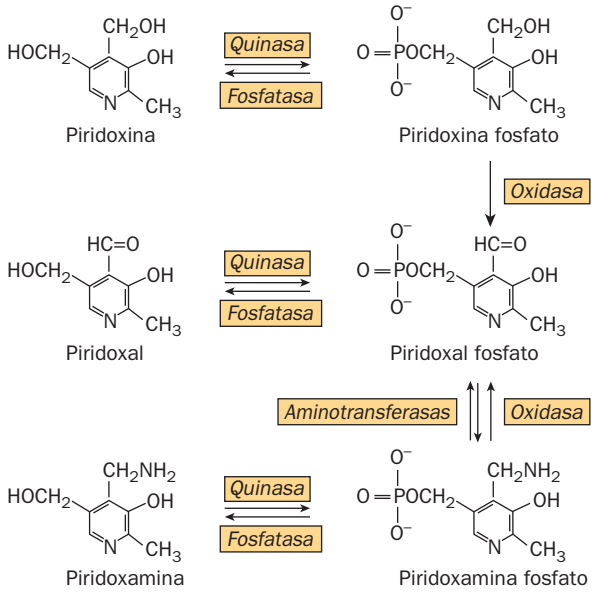


FIGURA 44-9 **Interconversión de los vitámeros de la vitamina B_6.**

esteroidea. El fosfato de piridoxal remueve el complejo hormona–receptor de la unión al ADN, terminando la acción de las hormonas. En la deficiencia de la vitamina B_6, hay una mayor sensibilidad a las acciones de las bajas concentraciones de los estrógenos, los andrógenos, el cortisol y la vitamina D.

La deficiencia de vitamina B_6 es rara

Aunque la enfermedad por deficiencia clínica es rara, existe evidencia de que una proporción significativa de la población tiene un estado marginal de vitamina B_6. La deficiencia moderada produce anormalidades en el metabolismo del triptófano y la metionina. El aumento de la sensibilidad a la acción de las hormonas esteroides puede ser importante en el desarrollo del cáncer de mama, útero y próstata dependiente de las hormonas y el estado de la vitamina B_6 puede afectar el pronóstico.

El estado de la vitamina B_6 se evalúa mediante el ensayo de transaminasas eritrocíticas

El método más ampliamente utilizado para evaluar el estado de la vitamina B_6 es la activación de las transaminasas eritrocíticas por el fosfato de piridoxal añadido *in vitro*, expresado como el coeficiente de activación. También se utiliza la medición de las concentraciones plasmáticas de la vitamina.

En exceso, la vitamina B_6 causa neuropatía sensorial

El desarrollo de la neuropatía sensorial se ha reportado en pacientes que toman de 2 a 7 g de piridoxina por día por una variedad de razones. Como algún daño residual después de la suspensión de estas altas dosis; otros informes sugieren que ingestas superiores a 100 a 200 mg/d se asocian con daño neurológico.

LA VITAMINA B_{12} SE ENCUENTRA ÚNICAMENTE EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

El término "vitamina B_{12}" se usa como un descriptor genérico para las cobalaminas, aquellos corrinoides (compuestos que contienen cobalto que poseen el anillo de corrina) que tienen la actividad biológica de la vitamina (**figura 44-10**). Algunos corrinoides que son factores de crecimiento para los microorganismos no tienen actividad de vitamina B_{12}, además también pueden ser antimetabolitos de la vitamina. Aunque se sintetiza de manera exclusiva por los microorganismos para fines prácticos, la vitamina B_{12} se encuentra sólo en los alimentos de origen animal, puesto que no existen fuentes vegetales de esta vitamina. Esto significa que los vegetarianos estrictos (veganos) corren el riesgo de desarrollar deficiencia de B_{12}. De modo que las pequeñas cantidades de la vitamina formada por las bacterias en la superficie de las frutas pueden ser adecuadas para cumplir con los requerimientos, aunque están disponibles las preparaciones de la vitamina B_{12} producidas por la fermentación bacteriana.

La absorción de vitamina B_{12} requiere dos proteínas de unión

La vitamina B_{12} se absorbe unida al factor intrínseco, una pequeña glicoproteína secretada por las células parietales de la mucosa gástrica. El ácido gástrico y la pepsina liberan la vitamina de la unión con las proteínas en los alimentos y la hacen disponible para unirse a la cobalofilina, una proteína de unión secretada en la saliva. En el duodeno, la cobafolofina se hidroliza y libera la vitamina para unirse al factor intrínseco. Por tanto, la insuficiencia pancreática puede ser un factor en el desarrollo de la deficiencia de vitamina B_{12} que resulta en la excreción de la vitamina B_{12} unida a la cobalofilina. El factor intrínseco une sólo los vitámeros activos de la vitamina B_{12} y no otros corrinoides. La vitamina B_{12} se absorbe desde el tercio distal del íleon a través de los receptores que se unen al factor intrínseco–complejo de la vitamina B_{12}, pero no al factor intrínseco libre o a la vitamina libre. Hay una considerable circulación enterohepática de la vitamina B_{12} con la excreción en la bilis, luego la reabsorción después de unirse al factor intrínseco en el íleon.

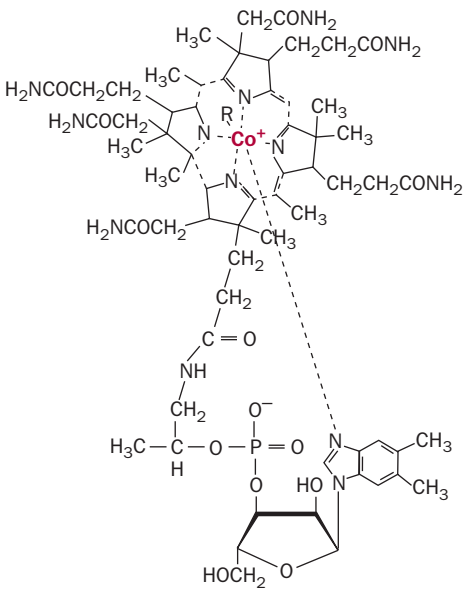


FIGURA 44-10 **Vitamina B_{12}.** Cuatro sitios de coordinación en el átomo de cobalto central son quelados por los átomos de nitrógeno del anillo de corrina y uno por el nitrógeno del nucleótido de dimetilbencimidazol. El sexto sitio de coordinación puede estar ocupado por CN^- (cianocobalamina), OH^- (hidroxocobalamina), H_2O (aquocobalamina, -CH3 metil cobalamina) o 5'-desoxiadenosina (adenosilcobalamina).

Existen dos enzimas dependientes de la vitamina B_{12}

La **metilmalonil–CoA mutasa** y la **metionina sintasa** (**figura 44-11**) son enzimas dependientes de la vitamina B_{12}. La metilmalonil-CoA se forma como un intermediario en el catabolismo de la valina y por la carboxilación de la propionil-CoA que surge en el catabolismo de la isoleucina, el colesterol y los ácidos grasos raros con un número impar de átomos de carbono, o directamente del propionato, un producto principal de la fermentación microbiana en los rumiantes. Sufre una reordenación dependiente de la vitamina B_{12} a succinil-CoA, catalizada por metilmalonil–CoA mutasa (véase la figura 19-2). La actividad de esta enzima se reduce en gran medida en la deficiencia de la vitamina B_{12}, dando lugar a una acumulación de metilmalonil–CoA y la excreción urinaria del ácido metilmalónico, que proporciona un medio para evaluar el estado nutricional de la vitamina B_{12}.

La deficiencia de vitamina B_{12} causa anemia perniciosa

La anemia perniciosa surge cuando la deficiencia de vitamina B_{12} deteriora el metabolismo del ácido fólico, lo que provoca una deficiencia funcional de folato que altera la eritropoyesis y hace que se liberen precursores inmaduros de eritrocitos en la circulación (anemia megaloblástica). La causa más común de la anemia perniciosa es la falta de absorción de la vitamina B_{12} en lugar de la deficiencia alimentaria. Esto puede ser el resultado del fallo de la secreción del factor intrínseco causado por una enfermedad autoinmune que afecta a las células parietales o de la producción de anticuerpos antifactor intrínseco. Hay una degeneración irreversible de la médula espinal en la anemia perniciosa, como resultado del fallo de la metilación de un residuo de la arginina en la proteína básica de la mielina. Este es el resultado de la deficiencia de la metionina en el

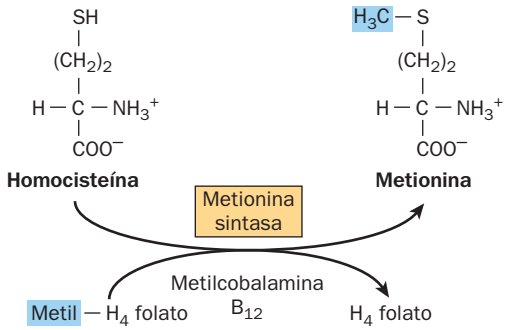


FIGURA 44-11 **La homocisteína y la trampa de folato.** La deficiencia de vitamina B_{12} conduce al deterioro de la metionina sintasa, lo que resulta en la acumulación de la homocisteína y la captura del folato como metiltetrahidrofolato.

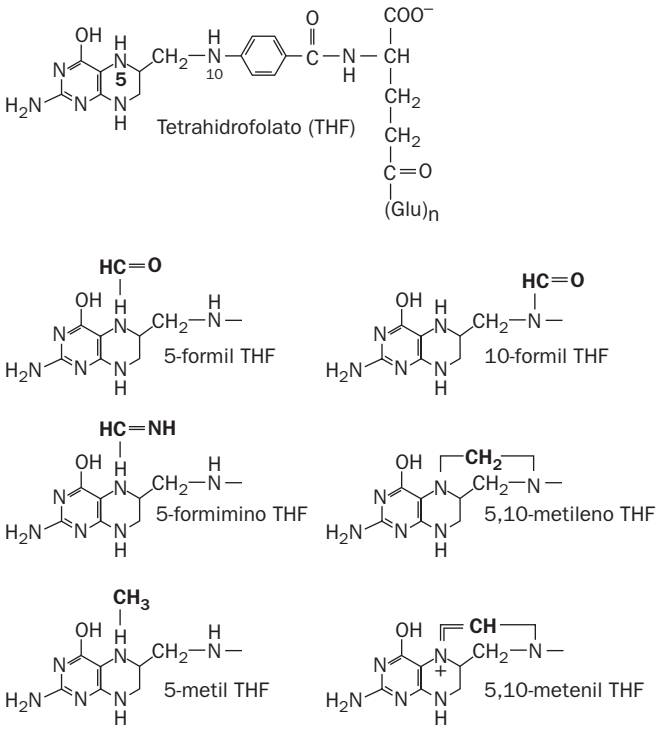


FIGURA 44-12 **Ácido tetrahidrofólico y los folatos sustituidos en un carbono.**

sistema nervioso central, en lugar de la deficiencia secundaria del folato.

EXISTEN MÚLTIPLES FORMAS DE FOLATO EN LA DIETA

La forma activa del ácido fólico (glutamato de pteroilo) es tetrahidrofurato (**figura 44-12**). Los folatos en los alimentos pueden tener hasta siete residuos de glutamato adicionales unidos por enlaces γ–peptídicos. Además, todos los folatos sustituidos con un carbono en la **figura 44-12** también pueden estar presentes en los alimentos. El grado en que las diferentes formas de folato pueden absorberse varía y la ingesta de folato se calcula como equivalentes de folato en la dieta: la suma de µg de alimentos con folatos + 1.7 × µg de ácido fólico (utilizado en el enriquecimiento de alimentos).

El tetrahidrofolato es un portador de unidades de un solo carbono

El tetrahidrofolato puede transportar fragmentos de un carbono unidos a N–5 (formilo, formimino o grupos metilo), N–10 (formilo) o puentes N–5–N–10 (grupos metileno o metilo). El 5–formil–tetrahidrofolato es más estable que el folato y, por tanto, se usa farmacéuticamente (conocido como ácido folínico) y el compuesto(**leucovorina**) sintético (racémico). El principal punto de entrada para los fragmentos de un carbono en los folatos sustituidos es el metilentetrahidrofolato (**figura 44-13**) que se forma mediante la reacción de la glicina, la serina y la colina con el tetrahidrofolato. La serina es la fuente más importante de folatos substituidos para las reacciones biosintéticas, y la actividad de la serina hidroximetiltransferasa está regulada por el estado de sustitución del folato y la disponibilidad del folato. La reacción es reversible y en el hígado puede formar serina a partir de la glicina como sustrato para la gluconeogénesis. El metileno, metil– y 10–formiltetrahidrofolatos son interconvertibles. Cuando no se requieren folatos de un carbono, la oxidación del formiltetrahidrofolato para producir dióxido de carbono proporciona un medio para mantener una cantidad de folato libre.

Los inhibidores del metabolismo del folato proporcionan quimioterapia contra el cáncer, medicamentos antibacterianos y antipalúdicos

La metilación de desoxiuridina monofosfato (dUMP) a timidina monofosfato (TMP), catalizada por timidilato sintasa, es esencial para la síntesis del ADN. El fragmento de carbono de metileno-tetrahidrofolato se reduce a un grupo metilo con liberación de dihidrofolato, que luego se reduce de nuevo a tetrahidrofolato mediante la dihidrofolato reductasa. La timidilato sintasa y la dihidrofolato reductasa son especialmente activas en los tejidos con una alta tasa de división celular. El metotrexato, un análogo del 10-metiltetrahidrofolato, inhibe al dihidrofolato reductasa y se usa en la quimioterapia del cáncer. Las dihidrofolato reductasas de algunas bacterias y parásitos difieren de la enzima humana; los inhibidores de estas enzimas se pueden usar como fármacos antibacterianos (por ejemplo, la trimetoprima) y como antipalúdicos (por ejemplo, la pirimetamina).

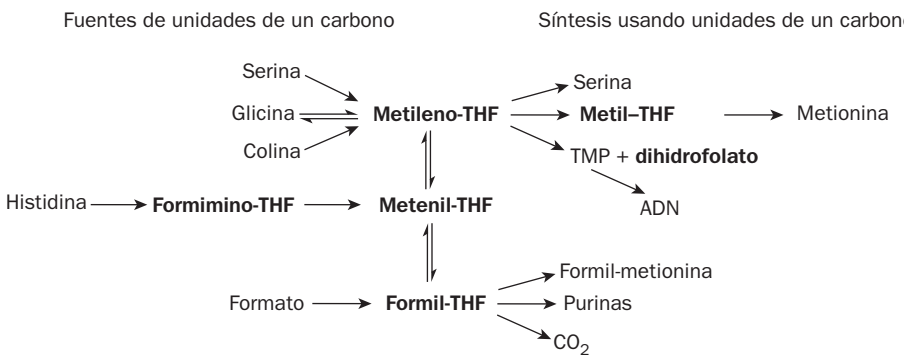


FIGURA 44-13 **Fuentes y utilización de los folatos sustituidos en un carbono.**

La deficiencia de vitamina B_{12} causa deficiencia funcional del folato, la "trampa del folato"

Cuando actúa como donante de metilo, la S–adenosilmetoinina forma homocisteína, que puede ser remetilada por metiltetrahidrofolato catalizado por la metionina sintasa, una enzima dependiente de la vitamina B_{12} (**figura 44-11**). Como la reducción del metilentetrahidrofolato a metiltetrahidrofolato es irreversible y la principal fuente de tetrahidrofolato para los tejidos es el metiltetrahidrofolato, entonces el papel de la metionina sintasa es vital y proporciona un vínculo entre las funciones del ácido fólico y la vitamina B_{12}. En la deficiencia de la vitamina B_{12} la alteración de la metionina sintasa da como resultado la acumulación de metiltetrahidrofolato que no puede utilizarse, la "trampa del folato". Por tanto, hay una deficiencia funcional del folato, secundaria a la deficiencia de la vitamina B_{12}.

La deficiencia del folato causa anemia megaloblástica

La deficiencia de ácido fólico en sí o la deficiencia de la vitamina B_{12} que conduce a la deficiencia funcional del ácido fólico afectan a las células que se están dividiendo rápidamente porque tienen un gran requerimiento de timidina para la síntesis de ADN. De manera clínica, esto afecta la médula ósea, lo que lleva a la anemia megaloblástica.

Los suplementos del ácido fólico reducen el riesgo de defectos del tubo neural y la hiperhomocisteinemia y pueden reducir la incidencia de enfermedades cardiovasculares y algunos cánceres

Los suplementos de 400 μg/d de ácido fólico comenzados antes de la concepción dan como resultado una reducción significativa en la incidencia de **espina bífida** y otros **defectos del tubo neural**. Debido a esto, es obligatorio el enriquecimiento de la harina con ácido fólico en muchos países. La elevación de la homocisteína en la sangre es un factor de riesgo significativo para la **aterosclerosis**, la **trombosis** y la **hipertensión**. La condición es el resultado de una capacidad alterada para formar metiltetrahidrofolato por la metilentetrahidrofolato reductasa, causando deficiencia funcional de folato, lo que da como resultado la incapacidad de volver a homologar la homocisteína a metionina. Las personas con una varianza anormal de la metilentetrahidrofolato reductasa, que ocurre en 5 a 10% de la población, no desarrollan hiperhomocisteiniemia si tienen una ingesta relativamente alta del folato. Existen varios ensayos controlados con placebo de suplementos de ácido fólico (comúnmente junto con vitaminas B_6 y B_{12}) que han mostrado la disminución esperada de la homocisteína en el plasma, pero aparte de la incidencia reducida del accidente cerebrovascular no ha habido ningún efecto sobre la muerte por la enfermedad cardiovascular.

También hay evidencia de que el bajo nivel de folato resulta en la alteración de la metilación de las islas CpG en el ADN, que es un factor en el desarrollo del cáncer colorrectal y otros cánceres. Varios estudios sugieren que la suplementación o el enriquecimiento de los alimentos con ácido fólico puede reducir el riesgo de desarrollar cánceres. Sin embargo, también hay cierta evidencia de que los suplementos de folato aumentan la tasa de transformación de los pólipos colorrectales preneoplásicos en cánceres, de modo que las personas con dichos pólipos pueden tener un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal si tienen una alta ingesta de folato.

El enriquecimiento con ácido fólico de los alimentos puede poner en riesgo a algunas personas

Los suplementos de ácido fólico corregirán la anemia megaloblástica de la deficiencia de la vitamina B_{12}, pero no el daño irreversible del nervio. Una alta ingesta de ácido fólico puede enmascarar la deficiencia de la vitamina B_{12}. Lo cual se convierte en un problema para las personas mayores, porque la gastritis atrófica que se desarrolla con el aumento de la edad conduce a la falta de secreción de ácido gástrico y, por tanto, a la incapacidad de liberar vitamina B_{12} de las proteínas de la dieta. Debido a esto, aunque muchos países han adoptado el enriquecimiento obligatorio de la harina con ácido fólico para prevenir defectos del tubo neural, otros no lo han hecho. También hay antagonismo entre el ácido fólico y algunos anticonvulsivos utilizados en el tratamiento de la epilepsia, y, como se señaló con anterioridad, existe cierta evidencia de que los suplementos de folato pueden aumentar el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal en personas con pólipos colorrectales preneoplásicos.

LA DEFICIENCIA DE LA BIOTINA DIETARIA ES DESCONOCIDA

Las estructuras de la biotina, la biocitina y la carboxibiotina (el intermediario metabólico activo) se muestran en la **figura 44-14**. La biotina se distribuye de forma amplia en muchos alimentos como la biocitina (ε–amino–biotinil lisina), que se libera en la proteólisis. Se sintetiza por la flora intestinal en los excesos de requerimientos. La deficiencia es desconocida, excepto entre las personas mantenidas durante muchos meses con nutrición parenteral total y una cantidad muy pequeña que ingieren grandes cantidades anormales de clara de huevo sin cocer, que contiene avidina, una proteína que se une a la biotina y la deja inactiva para la absorción.

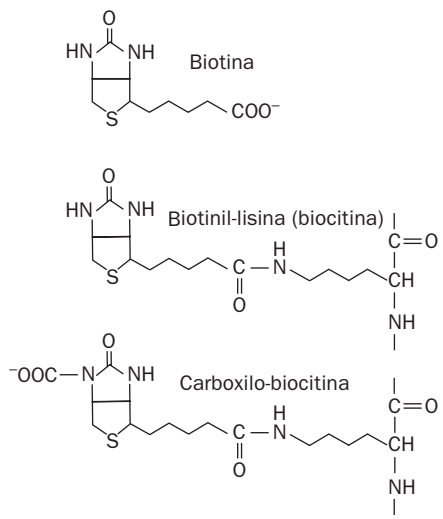


FIGURA 44-14 **Biotina, biocitina y carboxiceritina.**

La biotina es una coenzima de las enzimas carboxilasa

La biotina funciona para transferir dióxido de carbono en un pequeño número de reacciones: la acetil–CoA carboxilasa (véase figura 23-1), el piruvato carboxilasa (véase figura 19–1), el propionil-CoA carboxilasa (véase figura 19–2) y el metilcrotonil–CoA carboxilasa. Una holocarboxilasa sintetasa cataliza la transferencia de la biotina sobre un residuo de lisina de la apoenzima para formar el residuo de biocitina de la holoenzima. El intermedio reactivo es 1–N–carboxibiocitina formado a partir de bicarbonato en una reacción dependiente de ATP. El grupo carboxilo se transfiere luego al sustrato para la carboxilación.

La biotina también tiene un papel en la regulación del ciclo celular, actuando para biotinilar proteínas nucleares claves.

COMO PARTE DE LA COENZIMA A Y ACP, EL ÁCIDO PANTOTÉNICO ACTÚA COMO UN PORTADOR DE GRUPOS ACILO

El ácido pantoténico tiene un papel central en el metabolismo del grupo acilo cuando actúa como la fracción funcional de la panteteína de la coenzima A (CoA , *coenzyme* A) o la proteína transportadora del acilo (ACP, *acyl carrier protein*) (**figura 44-15**). El resto de la panteteína se forma después de la combinación del pantotenato con la cisteína que proporciona el grupo prostético SH de la CoA y la ACP. La CoA participa en las reacciones del ciclo del ácido cítrico (véase capítulo 16), la oxidación de los ácidos grasos (consúltese capítulo 22), las acetilaciones y la síntesis de colesterol (léase capítulo 26). La ACP participa en la síntesis de los ácidos grasos (véase capítulo 23). La vitamina está ampliamente distribuida en todos los productos alimenticios y la deficiencia no se ha informado inequívocamente en humanos, excepto en estudios específicos de agotamiento.

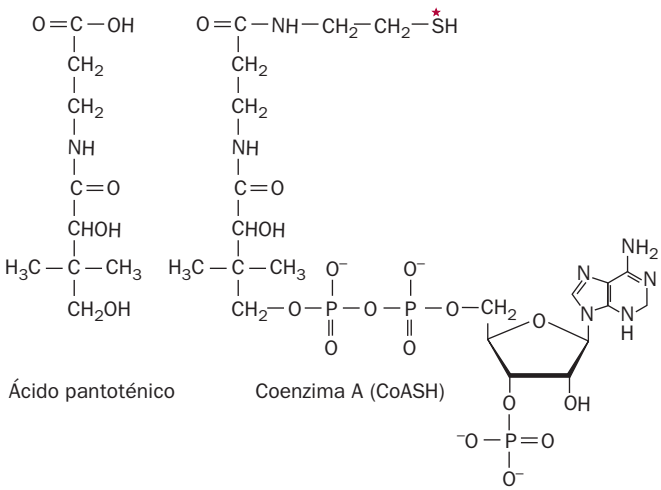


FIGURA 44-15 **Ácido pantoténico y coenzima A.** El asterisco muestra el sitio de acilación por los ácidos grasos.

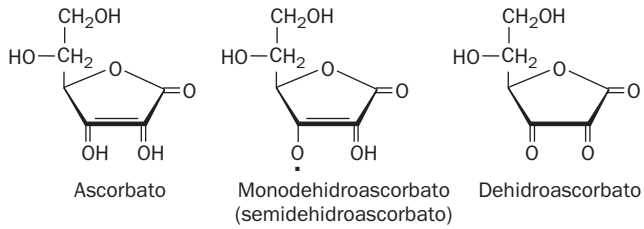


FIGURA 44-16 **Vitamina C.**

EL ÁCIDO ASCÓRBICO ES UNA VITAMINA PARA SÓLO ALGUNAS ESPECIES

La **vitamina C** (**figura 44-16**) es una vitamina para los seres humanos y otros primates, el conejillo de Indias, los murciélagos, las aves paseriformes y la mayoría de los peces e invertebrados; otros animales lo sintetizan como un intermediario en la vía del ácido urónico en el metabolismo de la glucosa (véase figura 20-4). En aquellas especies para las que es una vitamina, la gulonolactona oxidasa está ausente. Tanto el ácido ascórbico como el ácido dehidroascórbico tienen actividad vitamínica.

La vitamina C es la coenzima para dos grupos de hidroxilasas

El ácido ascórbico tiene funciones específicas en las hidroxilasas que contienen cobre y en las hidroxilasas que contienen hierro ligadas a α–cetoglutarato. También aumenta la actividad de varias otras enzimas *in vitro*, aunque esta es una acción de reducción no específica. Además, tiene una serie de efectos no enzimáticos como resultado de su acción como agente reductor y desactivador de los radicales de oxígeno (léase capítulo 45).

La **dopamina β–hidroxilasa** es una enzima que contiene cobre involucrado en la síntesis de las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina), a partir de la tirosina en la médula suprarrenal y el sistema nervioso central. Durante la hidroxilación, el Cu^{+} se oxida a Cu^{2+}; la reducción de nuevo a Cu^{+} requiere específicamente ascorbato que se oxida a monodeshidroascorbato.

Existen varias hormonas peptídicas que tienen una amida carboxiterminal la cual se deriva de un residuo de glicina terminal. Esta glicina está hidroxilada en el carbono α por una enzima que contiene cobre (**peptidilglicina hidroxilasa**) y requiere ascorbato para la reducción del Cu^{2+}.

También diversas hidroxilasas que requieren ascorbato y poseen hierro comparten un mecanismo de reacción común en el que la hidroxilación del sustrato está ligada a la descarboxilación oxidativa del α–cetoglutarato. Muchas de estas enzimas se encuentran involucradas en la modificación de las proteínas precursoras. Se necesitan la **prolina** y la **lisina hidroxilasas** para la modificación posintética del procolágeno a colágeno y también se requiere la prolina hidroxilasa en la formación de osteocalcina y el componente C1q del complemento. Se requiere de la aspartato β–hidroxilasa para la modificación posintética del precursor de la proteína C, la proteasa dependiente de la vitamina K que hidroliza el factor V activado en la cascada de la coagulación sanguínea (consúltese capítulo 52). Se necesitan la trimetilisina y la γ–butirobetaína hidroxiladas para la síntesis de la carnitina. En estas enzimas se requiere el ascorbato para reducir el grupo prostético de hierro después de la oxidación

accidental durante la reacción; no se consume estequiométricamente con los sustratos ni tiene un papel catalítico simple.

La deficiencia de vitamina C causa escorbuto

Los signos de deficiencia de vitamina C incluyen cambios en la piel, fragilidad de los capilares sanguíneos, deterioro de las encías, pérdida de dientes y fracturas óseas que se pueden atribuir a la alteración de la síntesis de colágeno y cambios psicológicos que pueden atribuirse a la falta de síntesis de catecolaminas.

Puede haber beneficios con mayores ingestas de vitamina C

Con ingestas superiores a aproximadamente 100 mg/d, la capacidad del cuerpo para metabolizar la vitamina C está saturada y cualquier ingesta adicional se excreta en la orina. Sin embargo, además de sus otras funciones, la vitamina C mejora la absorción del hierro inorgánico y esto depende de la presencia de la vitamina en el intestino. Por tanto, el aumento de la ingesta puede ser beneficioso y es frecuente incluir junto con suplementos de hierro para tratar la anemia por deficiencia de hierro. Existe muy poca evidencia de que las altas dosis de vitamina C previenen el resfriado común, aunque pueden reducir la duración y la gravedad de los síntomas.

SE REQUIEREN MINERALES PARA FUNCIONES FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

Muchos de los minerales esenciales (**cuadro 44-2**) se encuentran ampliamente distribuidos en los alimentos y es probable que la mayoría de las personas que consuman una dieta mixta reciban una ingesta adecuada. Las cantidades requeridas varían de gramos por día para el sodio y el calcio, a miligramos por día (por ejemplo, hierro y zinc), a microgramos por día para los oligoelementos. En general, las deficiencias minerales ocurren cuando los alimentos provienen de una región donde el suelo puede ser deficiente en algunos minerales (por ejemplo, yodo y selenio y las deficiencias de ambos ocurren en muchas partes del mundo). Cuando los alimentos provienen de una variedad de regiones; es menos probable que ocurra una deficiencia mineral. La deficiencia de hierro es un problema importante en todo el mundo porque si las pérdidas de hierro del cuerpo son relativamente altas (por ejemplo, debido a una gran pérdida de sangre menstrual o parásitos intestinales), es difícil lograr una ingesta adecuada para reemplazar las pérdidas. Sin embargo, 10% de la población (y más en algunas áreas) se encuentran genéticamente en riesgo de sobrecarga de hierro, lo que lleva a la formación de radicales libres como resultado de reacciones no enzimáticas de iones de hierro en solución libre cuando la capacidad de las proteínas fijadoras de hierro ha sido excedida. Los alimentos cultivados en suelos que contienen altos niveles de selenio causan toxicidad y la ingesta excesiva de sodio causa hipertensión en personas susceptibles.

CUADRO 44-2 Clasificación de minerales según su función

Función	Mineral
Función estructural	Calcio, magnesio, fosfato
Involucrado en la función de membrana	Sodio, potasio
Función como grupos prostéticos en enzimas	Cobalto, cobre, hierro, molibdeno, selenio, zinc
Papel o rol regulatorio en la acción hormonal	Calcio, cromo, yodo, magnesio, manganeso, sodio, potasio
Conocido por ser esencial, pero con función desconocida	Silicio, vanadio, níquel, estaño
Tiene efectos en el cuerpo, pero la esencialidad no está establecida	Flúor, litio
Puede ocurrir en alimentos y se sabe que es tóxico en exceso	Aluminio, arsénico, antimonio, boro, bromo, cadmio, cesio, germanio, plomo, mercurio, plata, estroncio

RESUMEN

- Las vitaminas son nutrientes orgánicos con funciones metabólicas esenciales que se requieren en pequeñas cantidades en la dieta porque no pueden ser sintetizados por el cuerpo. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) son moléculas hidrófobas que requieren una absorción normal de grasa para su absorción.
- La vitamina A (retinol) presente en la carne y la provitamina (β–caroteno) que se encuentra en las plantas forma el retinaldehído utilizado en la visión, y el ácido retinoico, que actúa en el control de la expresión génica.
- La vitamina D es una prohormona esteroidea que produce la hormona activa calcitriol que regula el metabolismo del calcio y del fosfato; la deficiencia provoca raquitismo y osteomalacia. Además tiene un papel en el control de la diferenciación celular y la secreción de la insulina.
- La vitamina E (tocoferol) es el antioxidante soluble en lípidos más importante en el cuerpo, actuando en la fase lipídica de las membranas protegiendo contra los efectos de los radicales libres.
- La vitamina K funciona actuando como cofactor de una carboxilasa que actúa sobre los residuos de glutamato de las proteínas precursoras de los factores de coagulación y el hueso y otras proteínas para permitirles quelar el calcio.
- Las vitaminas solubles en agua actúan como cofactores enzimáticos. La tiamina es un cofactor en la descarboxilación oxidativa de α–cetoácidos y de transcetolasa en la vía de la pentosa fosfato. La riboflavina y la niacina son cofactores importantes en las reacciones de oxidorreducción presentes en las enzimas flavoproteínas, NAD y NADP, respectivamente.
- El ácido pantoténico está presente en la coenzima A y la proteína transportadora de acilo que actúan como portadores de grupos acilo en las reacciones metabólicas.
- La vitamina B_6 como el fosfato de piridoxal es la coenzima de varias enzimas del metabolismo de los aminoácidos, incluidas las transaminasas y del glucógeno fosforilasa. La biotina es la coenzima de varias enzimas carboxilasas.
- La vitamina B_{12} y el folato proporcionan residuos de carbono para la síntesis del ADN y otras reacciones; la deficiencia produce anemia megaloblástica.
- La vitamina C es un antioxidante soluble en agua que mantiene la vitamina E y muchos cofactores de metal en estado reducido.
- Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo se deben proporcionar en la dieta. Cuando la ingesta es insuficiente, puede desarrollarse una deficiencia y el consumo excesivo puede ser tóxico.

CAPÍTULO

Radicales libres y nutrientes antioxidantes

45

David A. Bender, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir el daño causado al DNA, lípidos y proteínas por los radicales libres, así como las enfermedades asociadas con el daño que producen los radicales.
- Describir las principales fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo.
- Describir los mecanismos y factores dietéticos que protegen contra el daño que producen los radicales.
- Explicar cómo los antioxidantes también pueden actuar como prooxidantes, y por qué los ensayos de intervención de nutrientes antioxidantes han arrojado resultados decepcionantes.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los radicales libres se forman en el cuerpo en condiciones normales. Causan daño a los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en las membranas celulares y en las lipoproteínas plasmáticas. Esto puede causar cáncer, aterosclerosis, enfermedad arterial coronaria y enfermedades autoinmunes. Los estudios epidemiológicos y de laboratorio han identificado una serie de nutrientes antioxidantes protectores: selenio, vitaminas C y E, β–caroteno y otros carotenoides, así como una variedad de compuestos polifenólicos derivados de alimentos vegetales. Muchas personas toman suplementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, los ensayos de intervención muestran pocos beneficios de los suplementos antioxidantes, excepto en las personas que inicialmente eran deficientes, y muchos ensayos con β–caroteno y vitamina E han demostrado una mayor mortalidad entre los que toman los suplementos.

Las reacciones de los radicales libres son reacciones en cadena que se conservan

Los radicales libres son especies moleculares altamente reactivas con un electrón desapareado; persisten por muy poco tiempo (del orden de 10^{-9} a 10^{-12} segundos) antes de colisionar con otra molécula y abstraer o donar un electrón para lograr estabilidad. Al hacerlo, generan un nuevo radical a partir de la molécula con la que colisionaron. La principal forma en que se puede apagar un radical libre para terminar esta reacción en cadena, es si dos radicales reaccionan juntos, cuando los electrones desapareados pueden emparejarse en una u otra de las moléculas originales. Esto es una ocurrencia rara, debido a la muy corta vida media de un radical individual y las concentraciones muy bajas de radicales en los tejidos.

Los radicales más dañinos en los sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces llamados especies reactivas de oxígeno), especialmente superóxido, $\bullet O_2^-$, hidroxilo, •OH, y perhidroxilo, $\bullet O_2H$. El daño tisular causado por los radicales de oxígeno a menudo se denomina daño oxidativo, y los factores que protegen contra el daño que producen los radicales de oxígeno se conocen como antioxidantes.

Los radicales pueden dañar el DNA, los lípidos y las proteínas

La interacción de los radicales con bases en el DNA puede conducir a cambios químicos que, de no repararse (véase capítulo 35), pueden heredarse en las células hijas. El daño radical a los ácidos grasos insaturados en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas conduce a la formación de peróxidos lipídicos, luego dialdehídos altamente reactivos que pueden modificar de forma química a las proteínas y a las bases de ácidos nucleicos. Las proteínas también están sujetas a la modificación química directa por interacción con los radicales. El daño oxidativo a los residuos de tirosina en las proteínas puede conducir a la formación de dihidroxifenilalanina que se reducen en reacciones no enzimáticas que conducen a una mayor formación de radicales de oxígeno (**figura 45-1**).

La carga radical total del cuerpo puede estimarse midiendo los productos de la peroxidación lipídica. Los peróxidos lipídicos se pueden medir mediante la oxidación ferrosa con la prueba con naranja de xilenol (FOX, *ferrous oxidation in xilenol*). En condiciones ácidas, ellos oxidan al Fe^{2+} a Fe^{3+}, que forma un cromóforo con naranja xilenol. Los dialdehídos formados a partir de los peróxidos lipídicos pueden medirse por la reacción con ácido tiobarbitúrico, cuando forman un aducto rojo fluorescente, los resultados de esta prueba por lo general se reportan como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico completas, (TBARS, *thiobarbituric acid reactive substances*). La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados n–6 conduce a la formación del pentano, y de ácidos grasos poliinsaturados n–3 a etano, los cuales pueden medirse en el aire exhalado.

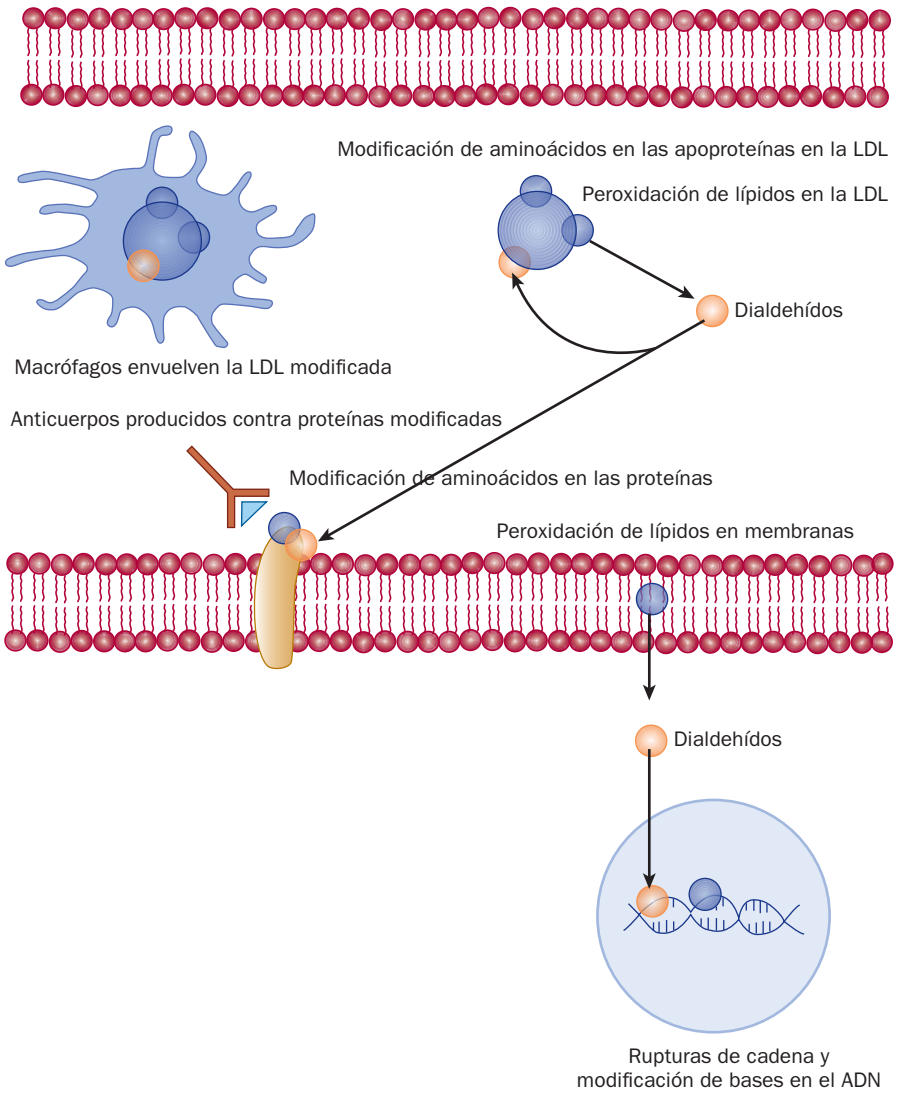


FIGURA 45-1 **Daño tisular por los radicales.**

El daño radical puede causar mutaciones, cáncer, enfermedad autoinmune y aterosclerosis

El daño radical al DNA en las células de la línea germinal en los ovarios y los testículos puede conducir a mutaciones hereditarias; en las células somáticas, el resultado puede ser el inicio del cáncer. Los dialdehídos formados como resultado de la peroxidación lipídica inducida por radicales en las membranas celulares, también pueden modificar las bases en el ADN.

La modificación química de los aminoácidos en proteínas, ya sea por acción directa de los radicales o como resultado de la reacción con los productos de la peroxidación lipídica inducida por radicales, conduce a proteínas que el sistema inmunitario reconoce como no propias. Los anticuerpos resultantes también reaccionarán de forma cruzada con proteínas tisulares normales, iniciando así la enfermedad autoinmune.

La modificación química de las proteínas o los lípidos en la lipoproteína de baja densidad (LDL, *low density lipoprotein*) del plasma conduce a una LDL anormal que no es reconocida por los receptores de LDL en el hígado. Las LDL modificadas son captadas por los receptores barredores de los macrófagos. Los macrófagos llenos de lípidos se infiltran debajo del endotelio de los vasos sanguíneos (en especial cuando ya hay algún daño en el endotelio), y se destruyen por el alto contenido de colesterol no esterificado acumulado. Esto ocurre en el desarrollo de placas ateroscleróticas, que en casos extremos, pueden ocluir más o menos por completo un vaso sanguíneo.

Existen múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo

La radiación ionizante (rayos X y UV) puede lisar el agua, lo que conduce a la formación de radicales hidroxilo. Los iones de los metales de transición, incluyendo Cu^{+}, Co^{2+}, Ni^{2+} y Fe^{2+} pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, conduciendo de nuevo a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (un compuesto importante en la señalización celular, que se ha descrito como el factor de relajación derivado del endotelio) es en sí mismo un radical y, lo que es más

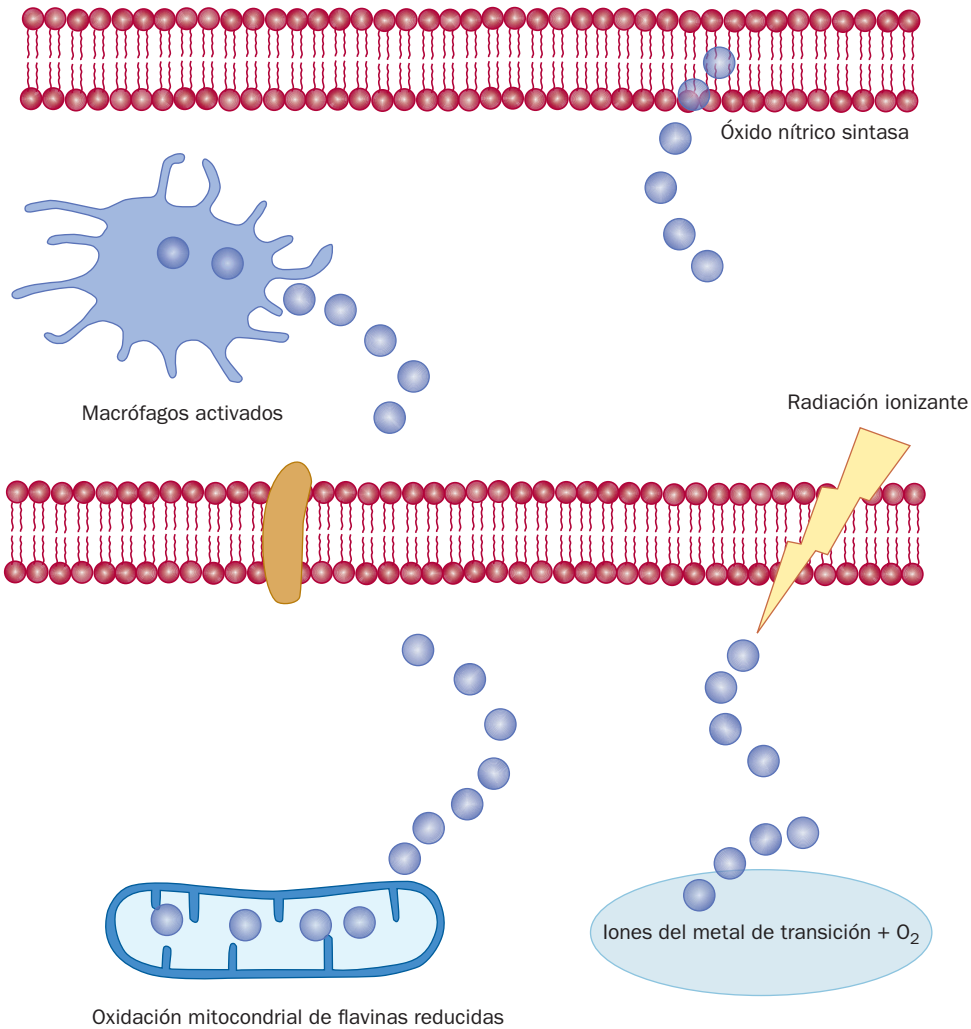


FIGURA 45-2 **Fuentes de radicales.**

importante, puede reaccionar con el superóxido para producir peroxinitrito, que se descompone para formar radicales hidroxilo (**figura 45-2**).

El estallido respiratorio de los macrófagos activados (véase capítulo 53) es una mayor utilización de la glucosa mediante la vía de la pentosa fosfato (consúltese capítulo 20) para reducir el $NADP^+$ a NADPH y la utilización mayor de oxígeno para oxidar NADPH para producir radicales de oxígeno (y halógeno) como agentes citotóxicos para matar microorganismos fagocitados. El estallido respiratorio de la oxidasa (NADPH oxidasa) es una flavoproteína que reduce el oxígeno a superóxido:

$$NADPH + 2O_2 \rightarrow NADP+ + 2{\bullet}O_2^- + 2H^+$$

Los marcadores plasmáticos de daño radical a los lípidos aumentan considerablemente en respuesta incluso a una infección leve.

La oxidación de las coenzimas de flavina reducidas en las cadenas transportadoras de electrones mitocondrial y microsómico (léase capítulo 13) avanzan a través de una serie de pasos en los que el radical flavina–semiquinona se estabiliza mediante la proteína a la que está unido y forma radicales de oxígeno como intermedios transitorios. Aunque los productos finales no son radicales, debido a la naturaleza impredecible de los radicales existe una "fuga" considerable de radicales, y aproximadamente de 3 a 5% del consumo diario de 30 mol de oxígeno por adulto se convierte en oxígeno simple, peróxido de hidrógeno, y radicales superóxido, perhidroxilo e hidroxilo, en lugar de someterse a una reducción completa del agua. Esto da como resultado una producción diaria de aproximadamente 1.5 mol de especies reactivas de oxígeno.

Existen varios mecanismos de protección contra el daño de los radicales

Los iones metálicos que se someten a una reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno, por lo regular no están libres en solución, sino que se encuentran unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético o a proteínas específicas de transporte y almacenamiento, de modo que no son reactivas. El hierro está ligado a la transferrina, la ferritina y la hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a la metalotioneína. Esta unión transporta proteínas que son demasiado grandes para filtrarse en los riñones y también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de manera accidental y también como las especies de oxígeno reactivo requeridas para una serie de reacciones catalizadas por las enzimas. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre el superóxido y los protones para producir oxígeno y peróxido de hidrógeno:

$$\cdot O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

El peróxido de hidrógeno se elimina mediante catalasa y varias peroxidasas: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. La mayoría de las enzimas que producen y requieren superóxido están contenidas en los peroxisomas, junto con la superóxido dismutasa, la catalasa y las peroxidasas.

Los peróxidos que se forman por daño radical a los lípidos en las membranas y las lipoproteínas plasmáticas se reducen a los ácidos grasos hidroxi por la glutatión peroxidasa, una enzima dependiente del selenio (de ahí la importancia de una ingesta adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante) y el glutatión oxidado se reduce por la glutatión reductasa dependiente de NADPH (véase figura 20-3). Los peróxidos lipídicos también se reducen a ácidos grasos por la reacción con la vitamina E, formando el radical tocoferoxilo, que es relativamente estable, debido a que el electrón desapareado se puede ubicar en cualquiera de las tres posiciones de la molécula (**figura 45-3**). El radical tocoferoxilo persiste el tiempo suficiente para experimentar una reducción de nuevo al tocoferol por reacción con la vitamina C en la superficie de la célula o en la lipoproteína. El radical monodeshidroascorbato resultante experimenta una reducción enzimática de nuevo a ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodeshidroascorbato para producir 1 mol de ascorbato y 1 mol de deshidroascorbato.

El ascorbato, el ácido úrico y una variedad de polifenoles derivados de alimentos vegetales actúan como antioxidantes que atrapan radicales solubles en agua, formando radicales relativamente estables que persisten durante el tiempo suficiente como para experimentar una reacción a productos no radicales. La ubiquinona y los carotenos actúan de forma similar a los antioxidantes que atrapan radicales solubles en lípidos en membranas y lipoproteínas plasmáticas.

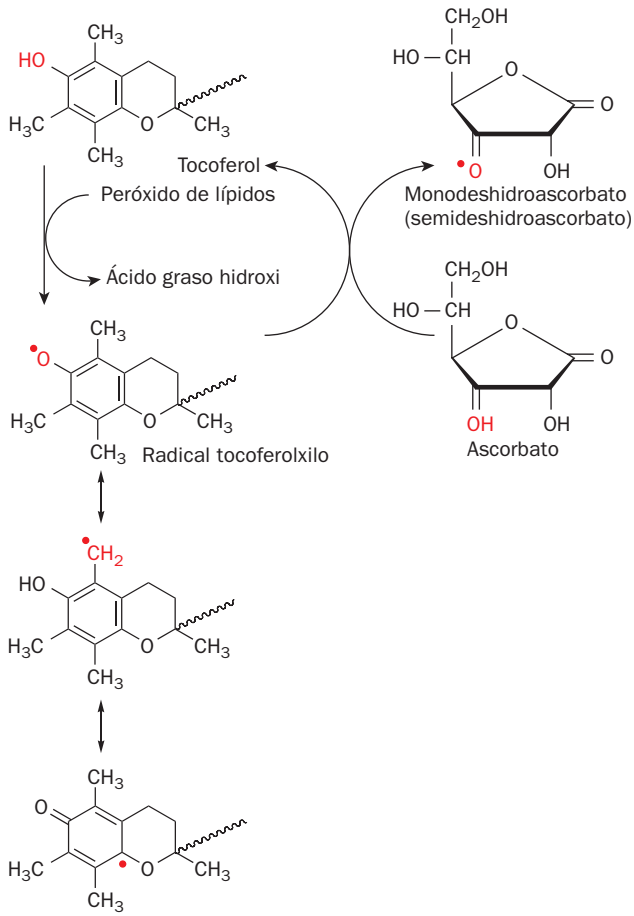


FIGURA 45-3 **Las funciones de las vitaminas E y C en la reducción de los peróxidos lipídicos y la estabilización del radical tocoferoxilo mediante la deslocalización del electrón desapareado.**

La paradoja de los antioxidantes (los antioxidantes también pueden ser prooxidantes)

Aunque el ascorbato es un antioxidante que reacciona con el superóxido y el hidroxilo para producir monodeshidroascorbato y peróxido de hidrógeno o agua, también puede ser una fuente de radicales superóxidos por reacción con radicales de oxígeno e hidroxilo mediante la reacción con iones de Cu^{2+} (**cuadro 45-1**). Sin embargo, estas acciones prooxidantes requieren concentraciones relativamente altas de ascorbato, que es poco probable que se alcancen en los tejidos, ya que una vez que la concentración plasmática de ascorbato alcanza aproximadamente 30 mmol/L, se alcanza el umbral renal, y con ingestas por encima de 100 a 120 mg/d la vitamina se excreta en la orina cuantitativamente con la ingesta.

Una considerable evidencia epidemiológica sugiere que el caroteno protege contra el cáncer de pulmón y otros cánceres. Sin embargo, dos importantes ensayos de intervención en la década de 1990 mostraron un aumento en la mortalidad por cáncer de pulmón (y de otro tipo) entre las personas que recibieron suplementos de β–caroteno. El problema es que, aunque el β–caroteno es de hecho un antioxidante que atrapa radicales en condiciones de baja presión parcial de oxígeno, como en la mayoría de los tejidos, a altas presiones parciales de oxígeno (como en los pulmones) y en especial en altas concentraciones, el β-caroteno es un prooxidante autocatalítico, y por tanto puede iniciar el daño radical a los lípidos y las proteínas.

CUADRO 45-1 **Funciones de los antioxidantes y prooxidantes de la vitamina C**

Funciones antioxidantes:
Ascorbato + $\cdot O_2^-$ → H_2O_2 + monodeshidroascorbato; la catalasa y las peroxidasas catalizan la reacción: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Ascorbato + $\cdot OH \rightarrow H_2O$ + monodeshidroascorbato
Funciones prooxidantes
Ascorbato + $O_2 \rightarrow \cdot O_2^-$ + monodeshidroascorbato
Ascorbato + $Cu^{2+} \rightarrow Cu^+$ + monodeshidroascorbato
$Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^- + \cdot OH$

La evidencia epidemiológica también sugiere que la vitamina E protege contra la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, el metaanálisis de los ensayos de intervención con vitamina E muestra una mayor mortalidad entre quienes toman suplementos (en dosis altas). Todos estos ensayos han usado α–tocoferol, y es posible que los otros vitámeros de vitamina E se encuentren presentes en los alimentos, pero no los suplementos, puedan ser importantes. *In vitro*, las lipoproteínas plasmáticas forman menos hidroperóxido de éster de colesterol cuando se incuban con fuentes de bajas concentraciones de radicales perhidroxilo cuando se ha eliminado la vitamina E, que cuando está presente. El problema parece ser que la vitamina E actúa como un antioxidante al formar un radical estable que persiste el tiempo suficiente para experimentar el metabolismo en productos no radicales. Esto significa que el radical también persiste el tiempo suficiente para penetrar de forma profunda en la lipoproteína causando más daño por radicales, en lugar de interactuar con un antioxidante soluble en agua en la superficie de la lipoproteína.

El óxido nítrico y otros radicales son importantes en la señalización celular, y especialmente en la señalización de la muerte celular programada (apoptosis) de células que han sufrido daños en el ADN y otros daños.

Es probable que altas concentraciones de antioxidantes, lejos de proteger contra el daño tisular, puedan apagar los radicales de señalización, y así permitir la supervivencia continua de las células dañadas, lo que aumenta, en lugar de disminuir, el riesgo de desarrollo de cáncer.

RESUMEN

- Los radicales libres son especies moleculares altamente reactivas con un electrón desapareado. Pueden reaccionar y modificar proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas.
- El daño radical a los lípidos y las proteínas en las lipoproteínas plasmáticas es un factor en el desarrollo de la aterosclerosis y la enfermedad arterial coronaria; el daño radical a los ácidos nucleicos puede inducir mutaciones hereditarias y el cáncer; el daño radical a las proteínas puede conducir al desarrollo de enfermedades autoinmunes.
- Los radicales de oxígeno surgen como resultado de los siguientes factores: la exposición a la radiación ionizante, las reacciones no enzimáticas de los iones de metales de transición, la respuesta de los macrófagos activados en las vías respiratorias y la oxidación normal de las coenzimas de flavina reducidas.
- La protección contra el daño de los radicales se produce por enzimas que eliminan los iones superóxido y el peróxido de hidrógeno, la reducción enzimática de peróxidos lipídicos unidos a la oxidación del glutatión, la reacción no enzimática de peróxidos lipídicos con la vitamina E, y la reacción de radicales con compuestos como vitaminas C y E, caroteno, ubiquinona, ácido úrico y polifenoles dietéticos que forman radicales relativamente estables y persisten el tiempo suficiente para experimentar reacción a productos no radicales.
- Excepto en personas que inicialmente eran deficientes, los ensayos de intervención de vitamina E y β–caroteno por lo general mostraron una mayor mortalidad entre los que tomaron los suplementos. El β–caroteno es sólo un antioxidante a bajas concentraciones de oxígeno; a mayores concentraciones de oxígeno es un prooxidante autocatalítico. La vitamina E forma un radical estable que es capaz de experimentar reacción con antioxidantes solubles en agua o penetrar más en las lipoproteínas y tejidos, aumentando así el daño de los radicales.
- Los radicales son importantes en la señalización celular, y especialmente en la señalización de la apoptosis de células que han sufrido daños en el DNA. Es probable que altas concentraciones de antioxidantes, lejos de proteger contra el daño tisular, puedan apagar los radicales de señalización y así permitir la supervivencia continua de las células dañadas, aumentando de esta manera, en lugar de disminuir, el riesgo de desarrollo de cáncer.

CAPÍTULO

46

Glucoproteínas

David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar la importancia de las glucoproteínas en la salud y la enfermedad.
- Describir los principales azúcares encontrados en las glucoproteínas.
- Describir las principales clases de glucoproteínas (*N*–ligados, *O*–ligados, y GPI–ligados).
- Describir las principales características de las vías de biosíntesis y degradación de las glucoproteínas.
- Explicar cómo diversos microorganismos como el virus de la influenza, se adhieren a las superficies de las células mediante cadenas de azúcar.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las **glucoproteínas** son proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos (los glicanos) unidas covalentemente a los aminoácidos; la **glicosilación** (la unión enzimática de los azúcares) es la modificación postraduccional más frecuente de las proteínas. Muchas proteínas también se someten a glicosilación reversible con un solo azúcar (*N*–acetilglucosamina) unido a un residuo de serina o treonina, el cual es también un sitio para la fosforilación reversible. Este es un mecanismo importante de regulación metabólica. La unión no enzimática de los azúcares a las proteínas también puede ocurrir y se conoce como **glicación**. Este proceso puede tener graves consecuencias patológicas (por ejemplo en la diabetes mellitus mal controlada).

Las glucoproteínas son una clase de **glucoconjugados** o **carbohidratos complejos**, moléculas que contienen una o más cadenas de carbohidratos ligadas covalentemente a proteínas, (para formar las **glucoproteínas** o los **proteoglicanos**, (consúltese capítulo 50) o lípidos (para formar los **glucolípidos**, (véase capítulo 21). Casi todas las **proteínas plasmáticas** y muchas **hormonas peptídicas** son glucoproteínas, al igual que varias **sustancias del grupo sanguíneo** (otras son **glucoesfingolípidos**). Muchas **proteínas de la membrana celular** (véase capítulo 40) contienen cantidades sustanciales de carbohidratos, y otras más están ancladas a la bicapa lipídica por una cadena de glicano. La evidencia ha registrado que las alteraciones en las estructuras de glucoproteínas y otros glucoconjugados en la superficie de las células cancerosas son importantes en la metástasis.

LAS GLUCOPROTEÍNAS ESTÁN SIEMPRE DISPONIBLES Y REALIZAN NUMEROSAS FUNCIONES

Las glucoproteínas se encuentran en la mayoría de los organismos, desde las bacterias hasta los seres humanos. Muchos virus también contienen glucoproteínas, algunas de las cuales desempeñan una función clave en la unión viral a las células huéspedes. Las glucoproteínas tienen una amplia gama de funciones (**cuadro 46-1**); el contenido de carbohidratos oscila entre 1 y más de 85% del peso. Las estructuras glicano de las glucoproteínas cambian en respuesta a señales implicadas en la diferenciación celular, la fisiología normal y la transformación neoplásica. Este es el resultado de diferentes patrones de expresión de las glucosiltransferasas. En el **cuadro 46-2** se enumeran algunas de las principales funciones de las cadenas de glicanos de las glucoproteínas.

LAS CADENAS DE OLIGOSACÁRIDOS CODIFICAN LA INFORMACIÓN BIOLÓGICA

La información biológica en la secuencia y los enlaces de azúcares en los glicanos difiere de la aportada por el DNA, ARN y proteínas en un aspecto importante; es información secundaria en lugar de primaria. El patrón de glicosilación de una proteína dada depende del patrón de expresión de las diversas **glucosiltransferasas** en la célula involucradas en la síntesis de glucoproteínas; la afinidad de las diferentes glucosiltransferasas para los sustratos de carbohidratos y la disponibilidad relativa de los diferentes sustratos de carbohidratos. Debido a esto existe la **microheterogeneidad** de las glucoproteínas, algo que complica su análisis. No todas las cadenas de glicanos de una glucoproteína dada están completas; algunas se encuentran truncadas.

La información de los azúcares se expresa a través de interacciones entre los glicanos y proteínas como las **lectinas** (véase a continuación) u otras moléculas. Estas interacciones conducen a cambios en la actividad celular.

CUADRO 46-1 Algunas funciones que realizan las glucoproteínas

Función	Glucoproteínas
Estructura molecular	Colágenos
Lubricante y agente protector	Mucinas
Molécula de transporte	Transferrina, ceruloplasmina
Molécula inmunológica	Inmunoglobulinas, antígenos de histocompatibilidad
Hormona	Gonadotropina coriónica, hormona estimulante de la tiroides (TSH, *thyrod–stimulating hormone*)
Enzima	Varias, por ejemplo, la fosfatasa alcalina
Sitio de reconocimiento–adhesión celular	Diversas proteínas involucradas en las interacciones célula-célula (por ejemplo, esperma–ovocito), célula-virus, célula-bacteria, y célula-hormona
Anticongelante	Proteínas plasmáticas de peces en agua fría
Interactuar con carbohidratos específicos	Lectinas, selectinas (lectinas de adhesión celular), anticuerpos
Receptor	Proteínas de la superficie celular involucradas en la acción de las hormonas y los medicamentos
Regular el plegamiento de las proteínas que se exportan desde la célula	Calnexina, calreticulina
Regulación de la diferenciación y el desarrollo	Notch y sus análogos, proteínas clave en el desarrollo
Hemostasia (y trombosis)	Glucoproteínas específicas en la superficie de las membranas de las plaquetas

CUADRO 46-2 Algunas funciones de las cadenas de oligosacáridos de las glucoproteínas

- Cambia las propiedades fisicoquímicas de la proteína como la solubilidad, viscosidad, carga, conformación, desnaturalización.
- Proporciona sitios de unión para varias moléculas, bacterias, virus y algunos parásitos.
- Proporciona señales de reconocimiento de superficie celular.
- Protege contra la proteólisis.
- Asegura el plegamiento correcto de las proteínas que se exportan desde la célula y dirige las proteínas plegadas incorrectamente para el transporte desde el retículo endoplasmático de nuevo al citosol para el catabolismo.
- Protege las hormonas peptídicas y otras proteínas plasmáticas contra el aclaramiento por el hígado.
- Permite el anclaje de las proteínas extracelulares en la membrana celular y de las proteínas intracelulares dentro de los orgánulos subcelulares como el retículo endoplasmático y de Golgi.
- Dirige la migración intracelular, clasificación y secreción de proteínas.
- Afecta el desarrollo embrionario y la diferenciación celular y tisular.
- Puede afectar los sitios de metástasis seleccionados por las células cancerosas.

OCHO AZÚCARES PREDOMINAN EN LAS GLUCOPROTEÍNAS HUMANAS

Sólo ocho monosacáridos se encuentran comúnmente en las glucoproteínas (**cuadro 46-3)** (véase capítulo 15). El ácido *N*–acetilneuramínico (NeuAc, *N-acetylneuraminic*) se encuentra generalmente en la terminación de las cadenas de oligosacáridos, unido a residuos de galactosa subterminal (Gal, *galactose*) o N–acetilgalactosamina (GalNAc, *N–acetylgalactosaminine*). Los otros azúcares en general se encuentran en posiciones más internas. El **sulfato** a menudo se localiza en las glucoproteínas, por lo regular unido a la galactosa, la *N*– acetilglucosamina, o la *N*–acetilgalactosamina.

Como en la mayoría de las reacciones biosintéticas, no es el azúcar fosforilada o libre la que conforma el sustrato para la síntesis de las glucoproteínas, sino el **azúcar nucleótido** correspondiente (véase figura 18-2); algunos contienen UDP y otros guanosín difosfato (GDP, *guanosine diphosphate*) o citidina monofosfato (CMP, *cytidine monophosphate*).

LAS LECTINAS PUEDEN UTILIZARSE PARA PURIFICAR A LAS GLUCOPROTEÍNAS Y PARA INVESTIGAR SUS FUNCIONES

Las lectinas son **proteínas de unión a los carbohidratos** que aglutinan las células o precipitan los glucoconjugados; varias lectinas son en sí mismas glucoproteínas. Las inmunoglobulinas que reaccionan con azúcares no se consideran lectinas. Dado que las lectinas contienen al menos dos sitios de unión al azúcar; las proteínas con un solo sitio de unión al azúcar simple no aglutinarán las células, ni precipitarán los glucoconjugados.

Las lectinas se descubrieron por primera vez en las plantas y los microorganismos, pero ahora se conocen muchas lectinas de origen animal incluido el **receptor de sialoglucoproteína** de los mamíferos. Muchas hormonas peptídicas, y la mayoría de las proteínas plasmáticas son glucoproteínas. El tratamiento de la proteína con neuraminidasa elimina el resto del ácido *N*–acetilneuramínico terminal, exponiendo el residuo de galactosa subterminal. Esta sialoglucoproteína se elimina de la circulación más rápido que la glucoproteína intacta. Las células hepáticas contienen un receptor de sialoglucoproteína que reconoce el resto de la galactosa de muchas proteínas plasmáticas desialiladas, lo que conduce a su endocitosis y catabolismo.

Las lectinas de las plantas se llamaban **fitohemaglutininas**, debido a su capacidad de aglutinar los glóbulos rojos al reaccionar con las glucoproteínas de la superficie celular. Las lectinas no desnaturalizadas en las leguminosas poco cocidas, pueden conducir a la eliminación de la mucosa intestinal al aglutinar las células de la mucosa.

Las lectinas se usan para purificar a las glucoproteínas, como herramientas para explorar los perfiles de las glucoproteínas de las superficies celulares y como reactivos para generar células mutantes deficientes en ciertas enzimas involucradas en la biosíntesis de cadenas de oligosacáridos.

CUADRO 46-3 Los principales azúcares encontrados en las glucoproteínas[a] humanas

Azúcar	Tipo	Abreviatura	Nucleótido de azúcar	Comentarios
Galactosa	Hexosa	Gal	UDP-Gal	A menudo se encuentra subterminal a NeuAc en las glucoproteínas *N* ligados. Además, se encuentra en el núcleo trisacárido de los proteoglicanos.
Glucosa	Hexosa	Glc	UDP-Glc	Presente durante la biosíntesis de las glucoproteínas *N* ligados, pero no suele estar presente en las glucoproteínas maduras. Presente en algunos factores de la coagulación.
Manosa	Hexosa	Man	GDP-Man	Azúcar común en glucoproteínas *N* ligados.
Ácido *N*-acetilneuramínico	Ácido siálico (nueve átomos de C)	NeuAc	CMP-NeuAc	A menudo, el azúcar terminal en las glucoproteínas tanto *N* como *O* ligados. También se encuentran otros tipos de ácido siálico, pero el NeuAc es la especie principal que se encuentra en los humanos. Los grupos acetilo también pueden aparecer como especies de O-acetilo y también como *N*-acetilo.
Fucosa	Desoxihexosa	Fuc	GDP-Fuc	Puede ser externa en glucoproteínas tanto *N* como *O* ligados como interna, unidas al residuo GlcNAc unido a Asn en especies *N* ligados. También puede encontrarse asociada internamente al OH de Ser (por ejemplo, en t-PA y ciertos factores de la coagulación).
N-Acetilgalactosamina	Aminohexosa	GalNAc	UDP-GalNAc	Presente en glucoproteínas tanto *N* como *O* ligados.
N-Acetilglucosamina	Aminohexosa	GlcNAc	UDP-GlcNAc	El azúcar unido a la cadena polipeptídica a través de Asn en glucoproteínas ligadas a *N*; también se encuentra en otros sitios en los oligosacáridos de estas proteínas. Muchas proteínas nucleares tienen GlcNAc unidas al OH de Ser o Thr como un azúcar simple.
Xilosa	Pentosa	Xil	UDP-Xil	Xil se une al OH de Ser en muchos proteoglicanos. Xil en cambio se une a dos residuos Gal, formando un enlace trisacárido. Xil también se encuentra en el t-PA y en ciertos factores de la coagulación.

[a]Las estructuras de estos azúcares se ilustran en el capítulo 15.

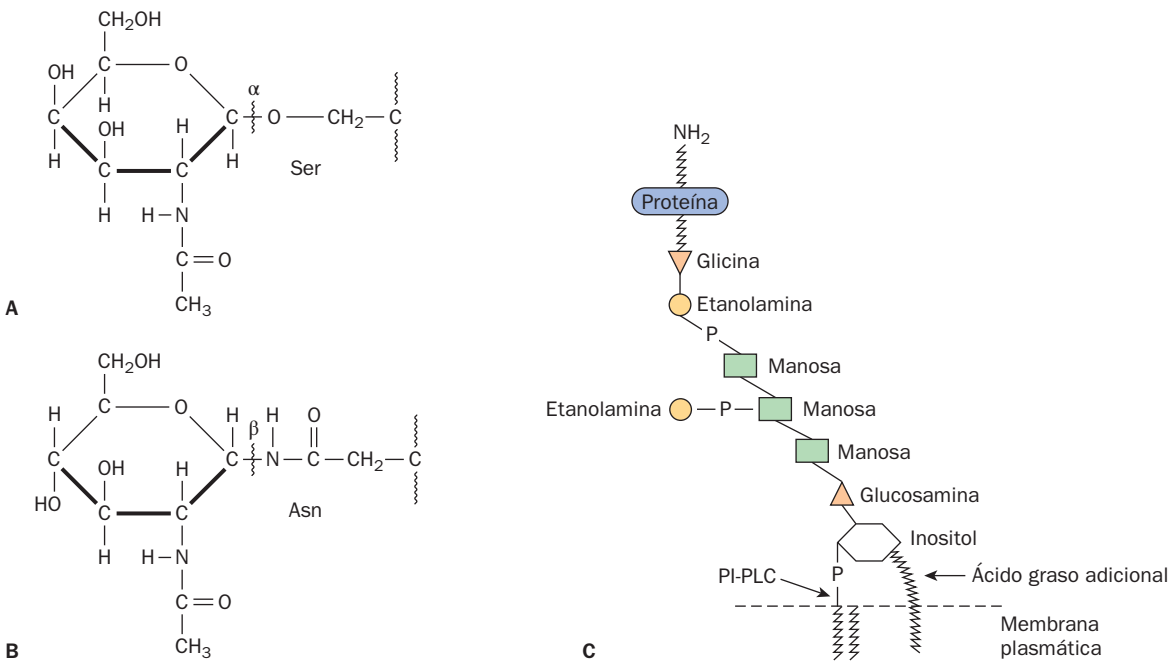


FIGURA 46-1 Los tres tipos principales de glucoproteína: a) un enlace *O* (*N*–acetilgalactosamina a serina), b) un enlace *N* (*N*-acetilglucosamina a asparagina) y c) un enlace glucosilfosfatidilinositol (GPI). La estructura GPI que se muestra une la acetilcolinesterasa a la membrana plasmática del glóbulo rojo humano. Se indica el sitio de acción de la PI–fosfolipasa C (PI–PLC, *PI–phospholipase C*), que libera la enzima de la unión a la membrana. Este GPI particular contiene un ácido graso adicional unido al inositol y también un resto de fosforiletanolamina adicional unido a la parte central del residuo de manosa. Las variaciones encontradas entre diferentes estructuras de GPI incluyen la identidad del aminoácido carboxilo terminal, las moléculas unidas a los residuos de manosa y la naturaleza precisa del resto lipídico.

EXISTEN TRES GRANDES CLASES DE GLUCOPROTEÍNAS

Las glucoproteínas pueden dividirse en tres grupos principales, según la naturaleza del enlace entre el polipéptido y las cadenas de oligosacáridos (**figura 46-1**); existen otras clases menores de glucoproteína:

1. Aquellos que contienen un **enlace *O*–glucosídico** (*O*–ligado) que involucra a la cadena lateral de hidroxilo de serina o la treonina (y algunas veces también la tirosina) y un azúcar como la *N*–acetilgalactosamina (GalNAc–Ser [Thr]).

2. Aquellos que contienen un **enlace *N*–glucosídico** (*N*–ligado) que involucran al amida nitrógeno de asparagina y a la *N*–acetilglucosamina (GlcNAc–Asn).

3. Aquellos vinculados al aminoácido carboxilo terminal de una proteína a través de un resto fosforiletanolamina unido a un oligosacárido (el glicano), que a su vez está unido a través de la glucosamina al fosfatidilinositol (PI, *phosphatidylinositol*). Estas son glucoproteínas ancladas en **glucosilfosfatidilinositol** (**ancladas mediante GPI**, *glucosylphosphatidylinositol*). Entre otras funciones, participan en la conducción de las glucoproteínas a las áreas apicales o basolaterales de la membrana plasmática de las células epiteliales polarizadas (consúltese capítulo 40) (véase a continuación).

El número de cadenas de oligosacáridos unidos a una proteína puede variar de 1 a 30 o más, con cadenas de azúcares que varían de uno o dos residuos de longitud en estructuras más grandes. La cadena de glicano puede ser lineal o ramificada. Muchas proteínas contienen más de un tipo de cadena de azúcar; por ejemplo, la **glucoforina**, una importante glucoproteína de la membrana de los glóbulos rojos (véase capítulo 53), contiene tanto oligosacáridos *O* y *N* ligados.

LAS GLUCOPROTEÍNAS CONTIENEN VARIOS TIPOS DE ENLACES *O*-GLUCOSÍDICOS

Al menos cuatro subclases de enlaces *O*–glucosídicos se encuentran en las glucoproteínas humanas:

1. El enlace ***N*–acetilgalactosamina–Ser (Thr)** que se muestra en la figura 46-1 es el enlace predominante. Por lo regular, una galactosa o un residuo de ácido *N*–acetilneuramínico se unen a la *N*–acetilgalactosamina, pero se encuentran muchas variaciones en las composiciones del azúcar y en las longitudes de dichas cadenas de oligosacáridos. Este tipo de enlace se encuentra en **las mucinas** (véase a continuación).

2. Los **proteoglicanos** contienen un trisacárido galactosa–galactosa–xilosa (el llamado enlace trisacárido) unido a la serina.

3. Los **colágenos** (véase capítulo 50) contienen un enlace **galactosa–hidroxi–lisina**.

4. Muchas **proteínas nucleares y citosólicas** contienen cadenas laterales que consisten en una sola *N*–acetilglucosamina unida a un residuo de serina o treonina.

Las mucinas tienen un alto contenido de oligosacáridos o ligados y exhiben secuencias repetidas de aminoácidos

Las mucinas son glucoproteínas que son altamente resistentes a la proteólisis, debido a que la densidad de las cadenas de oligosacáridos dificulta el acceso de las **proteasas** a la cadena polipeptídica. Ayudan a **lubricar** y formar una **barrera física protectora** en las superficies epiteliales.

Las mucinas tienen dos características distintivas: un alto contenido de **oligosacáridos** o **ligados** (el contenido de carbohidratos es por lo general más de 50%); y la presencia de **números variables de repeticiones en tándem** (VNTR, *variable numbers of tandem repeats*) de la secuencia peptídica en el centro de la cadena polipeptídica, a la que están unidas las cadenas de *O*–glicanos en racimos. Estas secuencias repetidas en tándem son ricas en serina, treonina y prolina; hasta 60% del requerimiento dietético de treonina puede explicarse por la síntesis de las mucinas. Aunque los *O*–glicanos predominan, las mucinas a menudo también contienen varias cadenas de *N*–glicanos.

Se producen mucinas **secretoras** y **unidas a la membrana**. El **moco** secretado en los tractos gastrointestinal, respiratorio y reproductivo es una solución que contiene aproximadamente 5% de mucinas. Las mucinas secretoras generalmente tienen una estructura oligomérica con monómeros unidos por enlaces disulfuro y, por tanto, una masa molecular muy alta. El moco tiene una alta viscosidad, y a menudo forma un gel debido a su contenido de mucinas. El alto contenido de *O*-glicanos confiere una estructura extendida. Esto se explica en parte por las interacciones estéricas entre los restos *N*–acetilgalactosamina y los aminoácidos adyacentes, lo que resulta en un efecto de rigidez de la cadena, de modo que la conformación de mucinas a menudo se convierte en barras rígidas. Las interacciones intermoleculares no covalentes entre las azúcares en las cadenas de glicano vecinas contribuyen a la formación de gel. El alto contenido de ácido ***N*–acetilneuramínico** y residuos de **sulfato** encontrados en muchas mucinas otorga a estas una carga negativa.

Las mucinas unidas a membrana participan en las **interacciones célula–célula** y también pueden enmascarar antígenos de superficie celular. Muchas de las cuales son cancerígenas que forman grandes cantidades de mucinas, enmascaran los antígenos de superficie y protegen a las células cancerígenas de la vigilancia inmune. Las mucinas también transportan péptidos y epítopos de hidratos de carbono específicos del cáncer. Algunos de estos se han utilizado para estimular una respuesta inmune contra las células cancerígenas.

Las glucoproteínas *O* ligado se sintetizan mediante la adición secuencial de azúcares a partir del azúcar de nucleótidos

Debido a que la mayoría de las glucoproteínas están unidas a la membrana o son secretadas, su mRNA se traduce de forma común en polirribosomas unidos a la membrana (véase capítulo 37). Las cadenas de glicanos se construyen mediante la donación secuencial de azúcares a partir del azúcar de nucleótidos, catalizados por las **glucoproteínas glucosiltransferasas**. Debido a que muchas reacciones de glicosilación ocurren dentro de la luz del aparato de Golgi, existen **sistemas transportadores** (permeasas y transportadores) para transportar el azúcar de los nucleótidos (UDP–galactosa, GDP–manosa y ácido CMP–*N*–acetilneuramínico) a través de la membrana de Golgi. Son sistemas **antiportadores**, la entrada de una

molécula del azúcar nucleótido se equilibra mediante la salida de una molécula del nucleótido correspondiente (UMP, GMP o CMP).

Existen 41 tipos diferentes de glucoproteínas glucosiltransferasas. Las familias de las glucosiltransferasas se denominan por el donante de nucleótidos de azúcar y las subfamilias sobre la base del enlace formado entre el azúcar y el sustrato aceptor; la transferencia puede ocurrir con retención o inversión de la conformación del C–1 del azúcar. La unión del azúcar del nucleótido a la enzima provoca un cambio conformacional en la enzima que permite la unión del sustrato aceptor. Las glucosiltransferasas muestran un alto grado de especificidad para el sustrato aceptor, de manera frecuente actuando solamente sobre el producto de la reacción precedente. Las diferentes etapas en la formación de glicanos, y por tanto las diferentes glucosiltransferasas, se localizan en distintas regiones del aparato de Golgi, por lo que existe una separación espacial de los pasos en el proceso. No todas las cadenas de glicanos de una glucoproteína dada están completas; algunas están truncadas, lo que conduce a la microheterogeneidad. No se conoce ninguna secuencia de consenso para determinar qué residuos de serina y treonina están glicosilados, pero el primer resto de azúcar incorporado es de forma frecuente *N*–acetilgalactosamina.

LAS GLUCOPROTEÍNAS *N* LIGADOS CONTIENEN UN ENLACE DE ASPARAGINA-*N*-ACETILGLUCOSAMINA

Las glucoproteínas *N* ligado son la principal clase de glucoproteínas incluyendo a las glucoproteínas **de unión a la membrana** y las **circulantes**. Se distinguen por la presencia del enlace asparagina-*N*-acetilglucosamina (**figura 46-1**). Hay tres clases principales de oligosacáridos *N* ligados: **complejo**, **alto contenido en manosa** e **híbrido**. Las tres clases tienen el mismo pentasacárido ramificado, $Man_3GlcNAc_2$, unido a la asparagina, pero difieren en sus ramas externas (**figura 46-2**).

Los oligosacáridos complejos contienen dos, tres, cuatro o cinco ramas externas. Las ramas de oligosacáridos a menudo se denominan **antenas**, por lo que se pueden encontrar estructuras bi-, tri-, tetra- y pentaantenarias. Por lo general, contienen residuos terminales de ácido *N*–acetilneuramínico y restos de galactosa y *N*–acetilglucosamina subyacentes, la última a menudo constituye el disacárido *N*-acetil–lactosamina. Las **unidades repetitivas de *N*–acetil-lactosamina** [Galβ1–3/4GlcNAcβ1-3]*n* (poli–*N*–acetil–lactosaminoglicanos), se encuentran a menudo en cadenas de glicanos ligadas a *N*. Las sustancias del grupo sanguíneo I/i pertenecen a esta clase. Existe un desconcertante número de cadenas del tipo complejo, se muestra en la **figura 46-2** es sólo uno de muchos. Otras cadenas complejas pueden terminar en galactosa o fucosa.

Los oligosacáridos con alto contenido en manosa por lo regular tienen de dos a seis residuos de manosa adicionales unidos al núcleo de pentasacárido. Las moléculas híbridas contienen características de las otras dos clases.

La biosíntesis de las glucoproteínas *n* ligados involucra al oligosacárido de dolicol–P–P

La síntesis de todas las glucoproteínas *N* ligados comienza con la síntesis de un oligosacárido ramificado unido al **dolicol pirofosfato** (**figura 46-3**) en el lado citosólico de la membrana del retículo en-

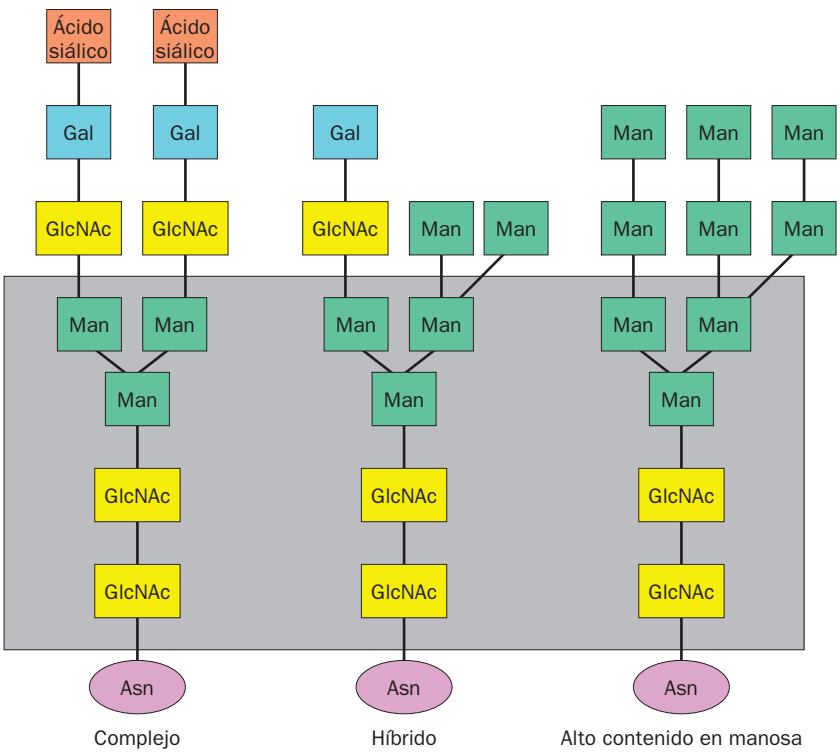


FIGURA 46-2 **Estructuras de los principales tipos de oligosacáridos ligados a la asparagina.** El área en el recuadro encierra el core pentasacárido común a todas las glucoproteínas ***N***–ligados.

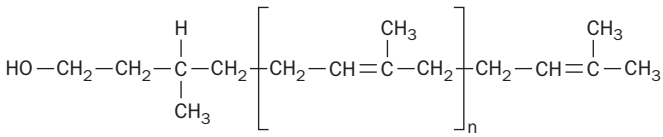


FIGURA 46-3 La estructura del dolicol. El grupo dentro de los paréntesis es una unidad de isopreno (n=17-20 unidades isoprenoides).

doplasmático, que luego se transloca a la luz del retículo endoplasmático, donde se somete a más glicosilación, antes de que la cadena de oligosacáridos se transfiera mediante una oligosacariltransferasa hacia un residuo de la asparagina del aceptor apoglucoproteína, cuando entra en el retículo endoplasmático durante la síntesis de polirribosomas de unión a la membrana. Esto es por tanto, una modificación cotraduccional. En muchas de las glucoproteínas *N*–ligados existe una secuencia de consenso de Asn–X–Ser/Thr (donde X = cualquier aminoácido distinto de la prolina) para determinar el sitio de la glucosilación; en otros no existe una secuencia de consenso clara para la glicosilación.

Como se muestra en la **figura 46-4**, el primer paso es una reacción entre la UDP–*N*-acetilglucosamina y el fosfato de dolicol que forma el dolicol pirofosfato *N*–acetilglucosamina. Una segunda sucede entre *N*–acetilglucosamina que se agrega de la UDP–*N*–acetilglucosamina, seguida por la adición de cinco moléculas de manosa del GDP–manosa. El oligosacárido del pirofosfato de dolicol, luego se transloca a la luz del retículo endoplasmático y se agregan más moléculas de manosa y glucosa para formar el oligosacárido dolicol pirofosfato final usando dolicol fosfato manosa y dolicol fosfato glucosa como donantes. El oligosacárido dolicol pirofosfato se transfiere luego al aceptor residuo de asparagina de la cadena de la proteína naciente.

Para formar cadenas con **alto contenido de manosa**, la glucosa y algunos de los residuos de manosa periféricos son eliminados por las glucosidasas. Para formar una cadena de oligosacáridos del **tipo complejo,** los residuos de glucosa y cuatro de los residuos de manosa se eliminan mediante glucosidasas en el retículo endoplasmático de Golgi, y se añaden luego la *N*–acetilglucosamina, la galactosa y el ácido *N*–acetilneuramínico en reacciones catalizadas por las glucosiltransferasas en el aparato de Golgi. Las **cadenas híbridas** se forman por procesamiento parcial, formando cadenas complejas en un brazo y unidades de manosa en el otro brazo.

Las glucoproteínas y la calnexina aseguran el plegamiento correcto de las proteínas en el retículo endoplasmático

La **calnexina** es una proteína chaperona en la membrana del retículo endoplasmático; la unión a la calnexina evita que una glucoproteína se agregue. Es una lectina que reconoce secuencias específicas de carbohidratos en la cadena de glicanos de la glucoproteína. Las glucoproteínas plegadas incorrectamente se someten a una desglicosilación parcial, y están destinadas a someterse al transporte desde el retículo endoplasmático de nuevo al citosol para el catabolismo.

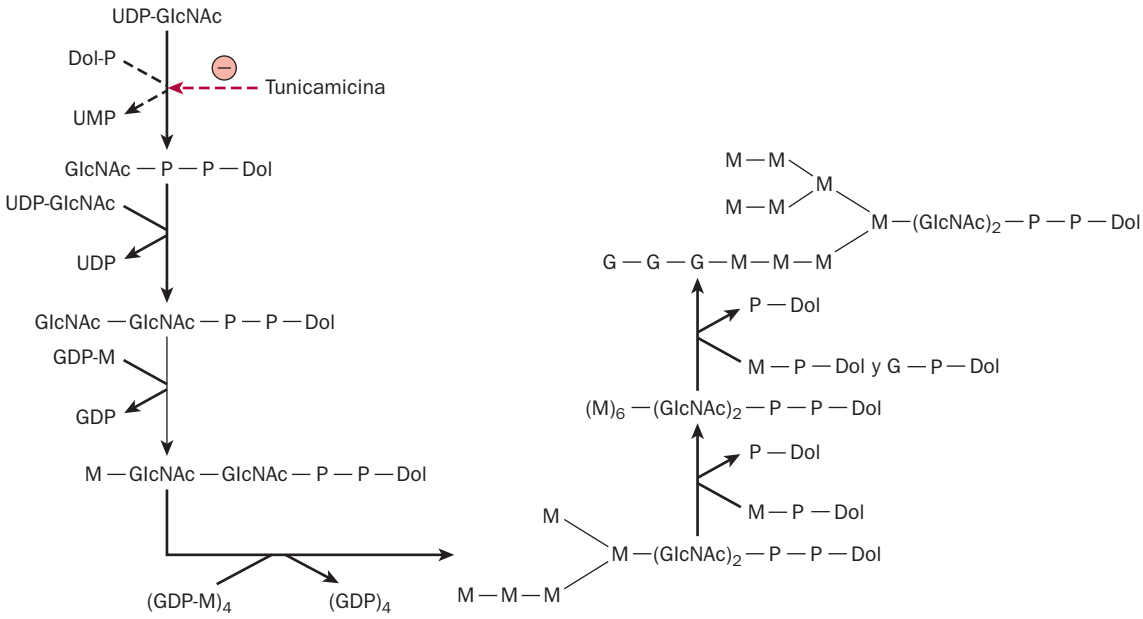


FIGURA 46-4 Vía de la biosíntesis del oligosacárido de dolicol pirofosfato. Obsérvese que los primeros cinco residuos internos de manosa son donados por la GDP–manosa, mientras que los residuos de manosa más externos y los residuos de glucosa son donados por la dolicol–P–manosa y la dolicol–P–glucosa. Dolicol, (Dol, *dolichol*); difosfato de guanosina (GDP); fosfato (P, *phosphate*); difosfato de uridina (UDP, *uridine diphosphate*); uridina monofosfato (UMP, *uridine monophosphate*).

La calnexina se une a las glucoproteínas que poseen un core monoglicosilado desde el cual se ha eliminado el residuo de glucosa terminal, dejando sólo la glucosa más interna adjunta. La calnexina y la glucoproteína unida forman un complejo con **ERp57**, un homólogo de la proteína disulfuro isomerasa, que cataliza intercambio de enlaces disulfuro, facilitando el plegado correcto. La glucoproteína unida se libera de su complejo con calnexina–ERp57 cuando la única glucosa restante se hidroliza por una glucosidasa y luego se encuentra disponible para la secreción, si está correctamente plegada. De lo contrario, una **glucosiltransferasa** reconoce esto y reglucosila a la glucoproteína que se vuelve a unir al complejo calnexina–Erp57. Si se encuentra correctamente plegada, la glucoproteína se desglucosila y secreta de nuevo. Si no es capaz de realizar el plegado correcto, se transloca fuera del retículo endoplasmático hacia el citosol para el catabolismo. La glucosiltransferasa detecta el plegamiento de la glucoproteína y sólo reglucosila a las proteínas mal plegadas. La proteína soluble del retículo endoplasmático **calreticulina** realiza una función similar de unión como la calnexina.

Varios factores regulan la glicosilación de las glucoproteínas

La glicosilación de glucoproteínas implica una gran cantidad de enzimas; alrededor de 1% del código del genoma humano es para los genes que están involucrados con la glicosilación de proteínas. Existen al menos 10 *N*–acetilglucosamina transferasas distintas y múltiples isoenzimas de las otras glucosiltransferasas. Los factores de control en la primera etapa de la biosíntesis de la glucoproteína *N* ligados (ensamblaje y transferencia del oligosacárido de dolicol pirofosfato) incluyen no sólo la disponibilidad del azúcar de los nucleótidos, sino también la presencia de sitios aceptores adecuados en las proteínas, la concentración tisular de dolicol fosfato y la actividad del oligosacárido: la proteína transferasa.

Se ha encontrado que varias **células cancerígenas** sintetizan diferentes cadenas de oligosacáridos a partir de las fabricadas en las células normales (por ejemplo, una mayor ramificación). Esto se debe a que las células cancerígenas expresan diferentes patrones de glucosiltransferasas de aquellas en células normales, como resultado de la activación o represión genética específica. Las diferencias en las cadenas de oligosacáridos podrían afectar las interacciones adhesivas entre las células cancerígenas y las células normales del tejido de origen, lo que contribuye a las metástasis.

ALGUNAS PROTEÍNAS ESTÁN ANCLADAS A LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR ESTRUCTURAS GLICOFOSFATIDIL-INOSITOL

Las proteínas unidas a membrana que están ancladas a la bicapa lipídica por un extremo glicofosfatidilinositol (GPI) (**figura 46-1**) constituyen la tercera clase principal de glucoproteínas. El enlace GPI es la forma más común en la que varias proteínas se anclan a las membranas celulares.

Las proteínas se anclan a la cara externa de la membrana plasmática o en la cara interna (luminal) de la membrana en vesículas secretoras entre los ácidos grasos de fosfatidilinositol. De modo que el fosfatidilinositol se enlaza a través de la *N*–acetilglucosamina a una cadena de glicano que contiene una variedad de azúcares, incluyendo manosa y glucosamina. A su vez, la cadena de oligosacáridos está unida mediante la fosforiletanolamina en un enlace amida al aminoácido carboxilo terminal de la proteína. Los constituyentes adicionales se encuentran en muchas estructuras del GPI; por ejemplo, el que se muestra en la **figura 46-1** contiene una fosforiletanolamina extra unida en el medio de los tres restos de manosa del glicano y un ácido graso extra unido a la glucosamina.

Existen tres funciones de este enlace GPI:

1. El anclaje GPI permite una **movilidad** muy mejorada de una proteína en la membrana plasmática, en comparación con una proteína que contiene secuencias transmembrana. El anclaje GPI está unido sólo a la cara externa de la bicapa lipídica, por lo que tiene más libertad de difundir que una proteína anclada a través de ambas capas de la membrana. El aumento de la movilidad puede ser importante para facilitar respuestas rápidas a los estímulos.
2. Algunos anclajes GPI pueden conectarse con vías de **transducción de señales**, de modo que las proteínas que no tienen un dominio transmembranal, pueden ser receptoras de hormonas y otras señales de superficie celular.
3. Las estructuras GPI pueden **dirigir** a las proteínas para los dominios apicales o basolaterales de la membrana plasmática de las células epiteliales polarizadas.

El anclaje GPI se preforma en el retículo endoplasmático, y luego se une a la proteína después de que se completa la síntesis ribosómica. Los productos de traducción primaria de las proteínas ancladas a GPI tienen no sólo una secuencia de señal amino–terminal que los dirige al retículo endoplasmático durante la síntesis, sino también un dominio hidrofóbico carboxi–terminal que actúa como la señal para la unión del anclaje GPI. La primera etapa en la síntesis del anclaje GPI es la inserción de los ácidos grasos de fosfatidilinositol en la cara luminal de la membrana del retículo endoplasmático, seguida de la glicosilación, comenzando con la esterificación de *N*–acetil–glucosamina al grupo fosfato de fosfatidilinositol. Se añade el resto de fosfoetanolamina terminal a la cadena de glicano completada. El dominio carboxi–terminal hidrofóbico de la proteína se desplaza por el grupo amino de etanolamina en la reacción de transamidación que forma el enlace amida entre el anclaje GPI y un residuo aspartato en la proteína.

ALGUNAS PROTEÍNAS SON SOMETIDAS A GLICOSILACIÓN RÁPIDAMENTE REVERSIBLE

Muchas proteínas incluidas las proteínas del poro nuclear, las proteínas del citoesqueleto, los factores de transcripción y las proteínas asociadas con la cromatina, así como las proteínas nucleares del oncogén y las proteínas supresoras de tumores, se someten a la *O*–glicosilación rápidamente reversible con un resto de azúcar simple, la *N*–acetilglucosamina. Los sitios de glicosilación de la serina y la treonina son los mismos usados en la fosforilación de estas proteínas, así la glicosilación y la fosforilación ocurren recíprocamente en respuesta a la señalización celular.

La *N*–acetilglucosamina transferasa *O* ligado que cataliza esta glicosilación utiliza UDP–*N*–acetilglucosamina como el donador de azúcar y tiene actividad de fosfatasa, por lo que puede reemplazar directamente a una serina o fosfato de treonina con *N*–acetilglucosamina. No existe una secuencia de consenso absoluta para la

reacción, pero aproximadamente la mitad de los sitios que están sujetos a glicosilación recíproca y fosforilación son Pro-Val-Ser. La *N*–acetilglucosamina transferasa *O* ligado se activa por la fosforilación en respuesta a la acción de la insulina, y la *N*–acetilglucosamina se elimina por la *N*–acetilglucosaminidasa dejando el sitio disponible para la fosforilación.

Tanto la actividad como la especificidad peptídica de la *N*–acetilglucosamina transferasa *O* ligado dependen de la concentración de UDP–*N*–acetilglucosamina. Dependiendo del tipo de célula hasta 2 a 5% del metabolismo de la glucosa es mediante la vía de la hexosamina, que conduce a la formación de *N*–acetilglucosamina, dando a la *N*–acetilglucosamina transferasa *O* ligado una función en la detección de nutrientes en la célula. La *O*–glicosilación excesiva con *N*–acetilglucosamina (y, por tanto, la fosforilación reducida) del grupo de proteínas involucradas en la **resistencia a la insulina** y la toxicidad de la glucosa en la **diabetes mellitus**, así como en las enfermedades neurodegenerativas.

LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLICACIÓN AVANZADA (AGE, *ADVANCED GLUCATION END-PRODUCTS*) SON IMPORTANTES POR CAUSAR DAÑO TISULAR EN LA DIABETES MELLITUS

La **glicación** es la unión no enzimática de azúcares (principalmente glucosa) a grupos amino de las proteínas (y también a otras moléculas incluyendo el ADN y lípidos), a diferencia de la **glicosilación** que se cataliza por enzimas. Inicialmente, la glucosa forma una **base de Schiff** con el amino terminal de la proteína, que luego sufre la **transposición de Amadori** para producir **cetoaminas** (**figura 46-5**) y otras reacciones para producir **productos finales de glicación avanzada (AGE)**. Las series totales de reacciones se conocen como la **reacción de Maillard**, que está involucrada en el **color marrón** de ciertos alimentos durante el almacenamiento o el calentamiento y proporciona gran parte del sabor de algunos alimentos.

Los productos finales de glicación avanzada son la base del **daño tisular** en la **diabetes mellitus** mal controlada. Cuando la concentración de glucosa en sangre es consistentemente elevada, hay

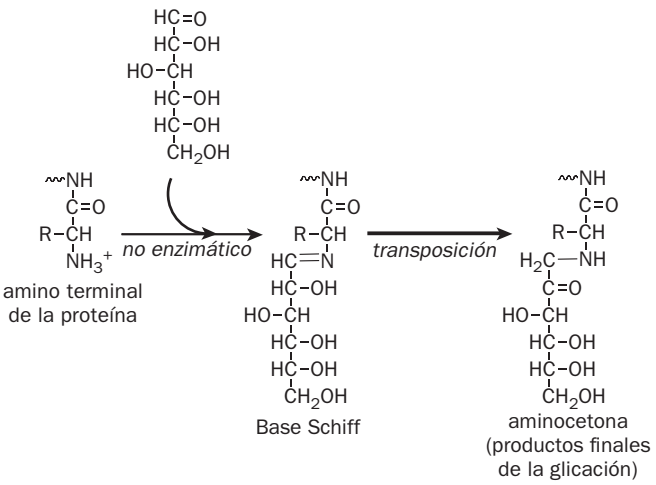


FIGURA 46-5 **Formación de productos finales de glicación avanzada a partir de la glucosa.**

una mayor glicación de proteínas. La glicación del colágeno y otras proteínas en la matriz extracelular altera sus propiedades (por ejemplo, aumenta la **reticulación del colágeno**). La reticulación puede conducir a la acumulación de diversas proteínas plasmáticas en las paredes de los vasos sanguíneos; en particular, la acumulación de la lipoproteína de baja densidad (LDL, *low–density lipoprotein*) puede contribuir a la **aterogénesis**. Los AGE parecen estar implicados en el daño **microvascular** y **macrovascular** en la diabetes mellitus. Las células endoteliales y los macrófagos tienen receptores AGE en sus superficies; la absorción de proteínas glicadas por estos receptores puede activar el factor de transcripción **NF-kB** (véase capítulo 52) generando una variedad de **citocinas** y **moléculas proinflamatorias**.

La glicación no enzimática de la **hemoglobina A** presente en las células de los glóbulos rojos conduce a la formación de **HbA_{1c}**. Ocurre normalmente en pequeña medida y aumenta en pacientes diabéticos con un control glucémico deficiente, cuya concentración de glucosa en sangre es elevada de manera constante. Como se discutió en el capítulo 6, la medición de la HbA_{1c} se ha convertido en una parte muy importante en el **manejo de los pacientes con diabetes mellitus**.

LAS GLUCOPROTEÍNAS ESTÁN INVOLUCRADAS EN MUCHOS PROCESOS BIOLÓGICOS Y EN MUCHAS ENFERMEDADES

Como se enumera en el **cuadro 46-1**, las glucoproteínas tienen muchas funciones diferentes que incluyen las moléculas de transporte, las moléculas inmunológicas y las hormonas. También son importantes en la fertilización e inflamación; una serie de enfermedades se deben a defectos en la síntesis y el catabolismo de las glucoproteínas.

Las glucoproteínas son importantes en la fertilización

Para alcanzar la membrana plasmática de un ovocito, un espermatozoide debe atravesar la **zona pelúcida** (ZP, *zona pellucida*), una envoltura gruesa y transparente que rodea al ovocito. La glucoproteína ZP3 es una glucoproteína *O* ligado que funciona como un receptor de espermatozoide. Una proteína en la superficie del espermatozoide interactúa con las cadenas de oligosacáridos de la ZP3. Mediante la señalización transmembrana, esta interacción induce la **reacción acrosómica**, en la que se liberan enzimas como las proteasas y la hialuronidasa, y otros contenidos del acrosoma de los espermatozoides. La liberación de estas enzimas permite que los espermatozoides pasen a través de la zona pelúcida, y alcancen la membrana plasmática del ovocito. Otra glucoproteína, la PH–30 es importante en la unión de la membrana plasmática del espermatozoide a la membrana del ovocito, y la posterior fusión de las dos membranas, permitiendo que los espermatozoides entren y fertilicen el ovocito.

Las funciones clave de la selectina en la inflamación y en la recirculación de linfocitos

Los **leucocitos** desempeñan funciones importantes en muchos procesos inflamatorios e inmunológicos; los primeros pasos son las interacciones entre los leucocitos circulantes y las **células endote-**

liales antes del paso de los leucocitos fuera de la circulación. Los leucocitos y las células endoteliales contienen lectinas en la superficie celular, llamadas **selectinas**, que participan en la adhesión intercelular. Las selectinas son proteínas transmembrana de unión al Ca^{2+} de cadena simple; los terminales amino contienen el dominio de lectina, que está involucrado en la unión a ligandos de carbohidratos específicos.

Las interacciones entre las selectinas en la superficie de los neutrófilos y las glucoproteínas en la célula endotelial atrapan los neutrófilos de forma temporal para que rueden sobre la superficie endotelial. Durante este proceso, los neutrófilos se activan, cambian de forma y al final se adhieren firmemente al endotelio. Esta adhesión es el resultado de las interacciones entre las **integrinas** (véase capítulo 53) sobre los neutrófilos y las proteínas relacionadas con las inmunoglobulinas en las células endoteliales. Después de la adhesión, los neutrófilos insertan pseudópodos en las uniones entre las células endoteliales, atraviesan dichas uniones, cruzan la membrana basal y luego son libres de migrar en el espacio extravascular.

Las selectinas se unen a los **oligosacáridos sialilados y fucosilados**. Los lípidos sulfatados (véase capítulo 21) también pueden ser ligandos. La síntesis de compuestos como anticuerpos monoclonales que bloquean las interacciones selectina–ligando, puede ser terapéuticamente útil para inhibir respuestas inflamatorias. Las **células cancerígenas** a menudo tienen ligandos de selectina en sus superficies, que pueden tener una función en la invasión y metástasis de las células cancerígenas.

Las anomalías en la síntesis de glucoproteínas son la base a ciertas enfermedades

La deficiencia de adhesión de los leucocitos II es una condición rara debido a mutaciones que afectan la actividad de un transportador GDP–fucosa localizado en el aparato de Golgi. La ausencia de ligandos fucosilados para las selectinas conduce a una marcada disminución en la circulación de neutrófilos. Los pacientes sufren de infecciones bacterianas recurrentes que amenazan la vida, también de retraso psicomotor y mental. La condición puede responder a la fucosa por vía oral.

La **hemoglobinuria paroxística nocturna** es una anemia leve adquirida caracterizada por la presencia de hemoglobina en la orina debido a la hemólisis de los glóbulos rojos, particularmente durante el sueño que refleja una ligera disminución del pH plasmático durante el sueño, lo que aumenta la susceptibilidad a la lisis por el sistema del complemento (véase capítulo 52). La condición se debe a la adquisición en las células hematopoyéticas de mutaciones somáticas en el gen que codifica la enzima, que une la glucosamina al fosfatidilinositol en la estructura GPI. Esto conduce a una deficiencia de proteínas ancladas a la membrana de los glóbulos rojos mediante un enlace GPI. Dos proteínas, **el factor de aceleración del deterioro** y el **CD59** con frecuencia interactúan con los componentes del sistema del complemento para prevenir la hemólisis. Cuando son deficientes, el sistema del complemento actúa sobre la membrana de los glóbulos rojos para causar hemólisis.

Algunas de las **distrofias musculares congénitas** son el resultado de defectos en la síntesis de glicanos en la proteína α–distroglicano. Esta proteína sobresale de la membrana superficial de las células musculares e interactúa con la laminina–2 (la merosina) en la lámina basal. Si los glicanos de α–distroglicano no se forman correctamente (como resultado de mutaciones en los genes que codifican algunas glucosiltransferasas), esto da como resultado una interacción defectuosa de α–DG con la laminina.

La **artritis reumatoide** se asocia con una alteración en la glicosilación de moléculas de inmunoglobulina G (IgG, *immunoglobulin G*) circulantes (véase capítulo 52), de modo que carecen de galactosa en sus regiones Fc y terminan en *N*– acetilglucosamina. La **proteína de unión a la manosa**, una lectina sintetizada por las células hepáticas y secretada en la circulación, se une a la manosa, la *N*–acetilglucosamina, y algunos otros azúcares. Por tanto, puede unir moléculas de IgG agalactosilo, que posteriormente activan el sistema del complemento, lo que contribuye a la inflamación crónica en las membranas sinoviales de las articulaciones.

La **proteína de unión a manosa** también puede unir azúcares cuando están presentes en la superficie de bacterias, hongos y virus preparando estos patógenos para la opsonización o destrucción por el sistema del complemento. Este es un ejemplo de **inmunidad innata** que no incluye inmunoglobulinas o linfocitos T. La deficiencia de esta proteína en los bebés pequeños como resultado de la mutación los hace susceptibles a infecciones recurrentes.

La enfermedad de células de inclusión (I-Cell, *inclusion cell*) resulta de la dirección errónea de enzimas lisosómicas

La manosa 6–fosfato sirve para dirigir las enzimas dentro del lisosoma. La enfermedad de células de inclusión es una rara enfermedad que se caracteriza por un retraso psicomotor progresivo severo y una variedad de signos físicos, con la que ocurre la muerte a menudo en la primera década de la vida. Las células de los pacientes con enfermedad de células–I carecen de casi todas las enzimas lisosómicas normales; los lisosomas acumulan así muchos tipos diferentes de moléculas no degradadas formando cuerpos de inclusión. El plasma de los pacientes contiene actividades muy altas de enzimas lisosomales, lo que sugiere que las enzimas se sintetizan, pero no alcanzan su destino intracelular apropiado y, en cambio, son secretados. Las enzimas lisosómicas de individuos normales portan el marcador de reconocimiento de manosa 6–fosfato, las células de pacientes con enfermedad de células-I carecen de la *N*–acetilglucosamina fosfotransferasa localizada en el Golgi. Dos lectinas actúan como **proteínas receptoras de manosa 6–fosfato**; ambas funcionan en la clasificación intracelular de las enzimas lisosómicas en vesículas recubiertas de clatrina en el aparato de Golgi. Estas vesículas luego dejan el Golgi y se fusionan con un compartimiento prelisosomal.

Las deficiencias genéticas de las hidrolasas de glucoproteína lisosomal causan enfermedades como la α-manosidosis

La rotación de las glucoproteínas implica el catabolismo de las cadenas de oligosacárido catalizadas por varias hidrolasas lisosomales, incluidas la α–neuraminidasa, β– galactosidasa, β-hexosaminidasa, α- y β–manosidasas, α-*N*-acetilgalactosaminidasa, α–fucosidasa, endo–β–*N*– acetilglucosaminidasa y aspartilglucosaminidasa. Los defectos genéticos de estas enzimas producen una degradación anormal de las glucoproteínas. La acumulación en tejidos de glucoproteínas parcialmente degradadas conduce a diversas enfermedades. Entre las más reconocidas se encuentran la manosidosis, la fucosidosis, la sialidosis, la aspartilglucosaminuria, y la enfermedad de Schindler, debido a deficiencias de α–manosidasa, α–fucosidasa, α–neuraminidasa, aspartilglucosaminidasa, y α–*N*–acetilgalactosaminidasa, respectivamente.

LOS GLICANOS ESTÁN INVOLUCRADOS EN LA UNIÓN DE VIRUS, BACTERIAS Y ALGUNOS PARÁSITOS A LAS CÉLULAS HUMANAS

Una característica de los glicanos que explica muchas de sus acciones biológicas es que se unen específicamente a proteínas y a otros glicanos. Un reflejo de esto es su capacidad para unirse a algunos virus, bacterias y parásitos.

El **virus influenza A** se une a las moléculas receptoras de glucoproteínas de la superficie celular que contienen ácido *N*–acetilneuramínico a través de una proteína **hemaglutinina**. El virus también tiene una **neuraminidasa** que desempeña una función clave al permitir la elución de las progenies recién sintetizadas en las células infectadas. Si se inhibe este proceso, la diseminación de los virus se ve notablemente disminuida. Los inhibidores de esta enzima (por ejemplo, el zanamivir, el oseltamivir) ahora están disponibles para su uso en el tratamiento de pacientes con influenza. Los virus de la influenza se clasifican de acuerdo con el tipo de hemaglutinina (H, *hemagglutinin*) y neuraminidasa (N, *neuraminidase*) que poseen. Existen al menos 16 tipos de hemaglutinina y 9 tipos de neuraminidasa. Por tanto, el **virus de la influenza aviar** se clasifica como **H5N1**.

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1, *human immunodeficiency virus type 1*), la causa del AIDS, se adhiere a las células a través de una de sus glucoproteínas superficiales (gp 120) y usa otra glucoproteína superficial (gp 41) para fusionarse con la membrana de la célula huésped. Los **anticuerpos** contra la gp 120 se desarrollan durante la infección por el HIV-1 y existe interés en usar la proteína como vacuna. Un problema importante con este enfoque es que la estructura de la gp 120 puede cambiar con relativa rapidez debido a mutaciones, permitiendo que el virus escape de la actividad neutralizante de los anticuerpos dirigidos contra él.

El *helicobacter pylori* es la principal causa de úlceras pépticas. Se une al menos a dos glicanos diferentes presentes en las superficies de las células epiteliales en el estómago, lo que le permite establecer un sitio de unión estable en el revestimiento del estómago. Del mismo modo, muchas bacterias que causan **diarrea** se adhieren a las células superficiales de la mucosa intestinal a través de los glicanos presentes en las glucoproteínas o glucolípidos. La unión del parásito de la malaria *Plasmodium falciparum* a las células humanas está mediado por un GPI presente en la superficie del parásito.

RESUMEN

- Las glucoproteínas son proteínas ampliamente distribuidas con diversas funciones que contienen una o más cadenas de carbohidratos unidas covalentemente.
- El contenido de carbohidratos de una glucoproteína oscila entre 1 y más de 85% de su peso, y puede ser simple o muy complejo en la estructura. Ocho azúcares se encuentran principalmente en las cadenas de azúcar de las glucoproteínas humanas: la xilosa, la fucosa, la galactosa, la glucosa, la manosa, la *N*–acetilgalactosamina, la *N*–acetilglucosamina y el ácido *N*–acetilneuramínico.
- Algunas de las cadenas de oligosacáridos de las glucoproteínas codifican información biológica; también son importantes en la modulación de la solubilidad, así como la viscosidad de las glucoproteínas, en la protección contra la proteólisis y en sus acciones biológicas.
- Las glucosidasas hidrolizan enlaces específicos en los oligosacáridos.
- Las lectinas son proteínas de unión a carbohidratos implicadas en la adhesión celular y en muchos otros procesos.
- Las principales clases de glucoproteínas son *O* ligados (que implican serina o treonina), *N*–ligados (que implica el grupo amida de asparagina) y GPI–ligados.
- Las mucinas son una clase de glucoproteínas *O* ligados que se distribuyen en las superficies de las células epiteliales de los tractos respiratorio, gastrointestinal y reproductivo.
- El retículo endoplasmático y el aparato de Golgi desempeñan una función principal en las reacciones de glicosilación implicadas en la biosíntesis de glucoproteínas.
- Las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas *O* ligados se sintetizan mediante la adición gradual de azúcares donados por nucleótidos de azúcar en reacciones catalizadas por glucoproteína glucosiltransferasas.
- La síntesis de glucoproteínas *N* ligados implica un dolicol–P–P–oligosacárido y varias glucotransferasas y glucosidasas. Dependiendo de las enzimas y las proteínas precursoras en un tejido, puede sintetizar oligosacáridos *N* ligados del tipo complejo, híbrido o de alto contenido en manosa.
- Las glucoproteínas están implicadas en muchos procesos biológicos que incluyen la fertilización y la inflamación.
- Existe una serie de enfermedades que implican trastornos en la síntesis y degradación de las glucoproteínas. También es importante resaltar que las glucoproteínas también están involucradas en muchas otras enfermedades incluidas la influenza, el AIDS, la artritis reumatoide, la fibrosis quística, y la úlcera péptica.

CAPÍTULO 47

Metabolismo de los xenobióticos

David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las dos fases del metabolismo xenobiótico: la primera que involucra principalmente reacciones de hidroxilación catalizadas por los citocromos P450; y la segunda utiliza las reacciones de conjugación.
- Describir la importancia metabólica del glutatión.
- Describir cómo los xenobióticos pueden tener efectos tóxicos, inmunológicos y carcinogénicos.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Estamos expuestos a una amplia variedad de compuestos que son extraños para el cuerpo (los **xenobióticos**, del griego *xenos*, extraño); compuestos naturales en alimentos vegetales, y compuestos sintéticos en medicamentos, aditivos alimentarios y contaminantes ambientales. El conocimiento del metabolismo de los xenobióticos es esencial para comprender la farmacología, la terapéutica, y la toxicología. Muchos de los xenobióticos en alimentos vegetales tienen efectos potencialmente beneficiosos (por ejemplo, actuando como antioxidantes, véase capítulo 45).

La comprensión de los mecanismos implicados en el metabolismo de los xenobióticos permitirá el desarrollo de microorganismos transgénicos y plantas que contengan genes que codifiquen enzimas que puedan usarse para hacer inofensivos los contaminantes potencialmente peligrosos. De manera similar, los organismos transgénicos pueden usarse para la biosíntesis de medicamentos y otros productos químicos.

SE HAN DETECTADO MUCHOS XENOBIÓTICOS QUE DEBEN SER METABOLIZADOS ANTES DE EXCRETARSE

Los principales xenobióticos de relevancia médica son los **medicamentos**, los **carcinógenos químicos**, los compuestos naturales en los alimentos vegetales, y una amplia variedad de compuestos que se han introducido en nuestro medio ambiente como los bifenilos policlorados (PCB, *polychlorinated biphenyles*) e insecticidas y otros pesticidas. La mayoría de estos compuestos se metabolizan, principalmente en el hígado. Si bien, el metabolismo de los xenobióticos con frecuencia se considera un proceso de desintoxicación, a veces los metabolitos de los compuestos que son inertes o inofensivos son biológicamente activos. Esto puede ser deseable como en la activación de un profármaco para el compuesto activo, o puede ser indeseable, como en la formación de un carcinógeno o mutágeno a partir de un precursor inerte.

El metabolismo de los xenobióticos ocurre en dos fases. En la **fase 1**, la principal reacción involucrada es la **hidroxilación**, catalizada por enzimas que son **monooxigenasas** o **citocromos P450**. Además de la hidroxilación, estas enzimas catalizan una amplia gama de otras reacciones que incluyen desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reducción. Las reacciones que involucran hidrólisis (por ejemplo, las catalizadas por las esterasas) y otras reacciones no catalizadas por el P450, también se producen en la fase 1.

El metabolismo de fase 1 hace que los compuestos sean más reactivos introduciendo grupos que pueden conjugarse con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión o aminoácidos en el metabolismo de la fase 2. Esto produce **compuestos polares** que son solubles en agua y, por tanto, pueden excretarse en la orina o la bilis.

En algunos casos, las reacciones metabólicas de la fase 1 convierten a los xenobióticos de los compuestos **inactivos a** compuestos **biológicamente activos**. En estos casos, los xenobióticos originales se denominan **profármacos o procarcinógenos**. A veces, las reacciones de fase 1 adicionales (por ejemplo, las reacciones de hidroxilación adicionales) convierten estos compuestos activos en formas menos activas o inactivas antes de la conjugación. En otros casos, las reacciones de conjugación convierten a los productos activos de las reacciones de la fase 1 en compuestos inactivos que se excretan.

LAS ISOFORMAS DEL CITOCROMO P450 HIDROXILAN UNA AMPLIA VARIEDAD DE XENOBIÓTICOS EN EL METABOLISMO DE LA FASE 1

La reacción principal implicada en el metabolismo de la fase 1 es la **hidroxilación**, catalizada por una familia de enzimas conocidas como **monooxigenasas** o **citocromos P450**. Existen al menos 57 genes del citocromo P450 en el genoma humano. El citocromo P450 es una enzima hemo. Se denomina así porque fue originalmente descubierto, cuando se observó que las preparaciones de microsomas (fragmentos del retículo endoplasmático) se habían reducido químicamente y luego se habían expuesto al monóxido de carbono, los cuales tenían una absorción máxima a los 450 nm.

Al menos la mitad de los fármacos comunes que ingerimos se metabolizan por isoformas del citocromo P450. También actúan sobre hormonas esteroideas, carcinógenos, y contaminantes. Además, los citocromos P450 son importantes en el metabolismo de un número de compuestos fisiológicos (por ejemplo, la síntesis de hormonas esteroideas (véase capítulo 26) y la conversión de vitamina D a su metabolito activo, el calcitriol (léase capítulo 44).

La reacción total catalizada por el citocromo P450 es:

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADP$$

El mecanismo de reacción se muestra en la figura 12-6. La **reductasa NADPH–citocromo P450** cataliza la transferencia de electrones de NADPH al citocromo P450. El citocromo P450 reducido cataliza la **activación reductiva del oxígeno molecular**, un átomo del cual se convierte en el grupo hidroxilo en el sustrato y el otro se reduce a agua. El **citocromo b_5**, otra hemoproteína que se encuentra en las membranas del retículo endoplasmático liso (véase capítulo 12), puede estar involucrado como donador de electrones en algunos casos.

Las isoformas del citocromo P450 forman una superfamilia de enzimas que contienen hemo

Existe una **nomenclatura sistemática** para los citocromos P450 y sus genes con base en su homología de secuencia de aminoácidos. La raíz CYP denota un citocromo P450. Esto es seguido por un número que designa a la **familia**; los citocromos P450 están incluidos en la misma familia, si exhiben 40% o más de identidad de secuencia de aminoácidos. Lo cual es seguido por una letra mayúscula que indica la **subfamilia**; los P450 están en la misma subfamilia si exhiben más de 55% de identidad de secuencia. A los P450 **individuales** se les asignan números en su subfamilia. Por tanto, CYP1A1 denota un citocromo P450 que es miembro de la familia 1 y la subfamilia A, y es el primer miembro individual de esa subfamilia. La nomenclatura para los **genes** que codifican los citocromos P450 es la misma, excepto que se usan cursivas; por tanto, el gen que codifica CYP1A1 es *CYP1A1*.

Los principales citocromos P450 involucrados en el metabolismo de los medicamentos son CYP1 (con tres subfamilias), CYP2 (13 subfamilias), y CYP3 (una subfamilia). Los diversos citocromos P450 tienen especificidades de sustrato superpuestas, de modo que una o más de las enzimas pueden metabolizar un amplio rango de xenobióticos.

Los citocromos P450 están presentes en mayor cantidad en las **células hepáticas** y los enterocitos. En el hígado y en la mayoría de los demás tejidos, se localizan principalmente en las **membranas del retículo endoplasmático liso**, que constituyen parte de la **fracción microsomal** cuando el tejido se somete a un fraccionamiento subcelular. En los microsomas hepáticos, los citocromos P450 pueden comprender tanto como 20% del total de proteína. En la **glándula suprarrenal**, donde están implicados en la biosíntesis del colesterol y las hormonas esteroideas, se encuentran en **las mitocondrias** así como en el retículo endoplasmático (véanse capítulos 26 y 41).

La especificidad superpuesta de los citocromos P450 explica las interacciones entre medicamentos, así como entre medicamentos y nutrientes

La mayoría de las isoformas del citocromo P450 son **inducibles**. Por ejemplo, la administración del fenobarbital u otros medicamentos causa hipertrofia del retículo endoplasmático liso y un aumento de tres a cuatro veces en la cantidad de citocromo P450 en pocos días. En la mayoría de los casos, esto implica una mayor transcripción de mRNA. Sin embargo, en algunos casos, la inducción implica la estabilización del mRNA o la propia proteína enzimática, o una mayor traducción del mRNA existente.

La inducción del citocromo P450 es la base de las **interacciones medicamentosas**, cuando los efectos de un medicamento se alteran por la administración de otro. Por ejemplo, el anticoagulante **warfarina** se metaboliza por el **CYP2C9**, que se induce por el fenobarbital. La inducción del CYP2C9 acrecentará el metabolismo de la warfarina, reduciendo así su eficacia, por lo que la dosis debe aumentarse. El CYP2E1 cataboliza el metabolismo de algunos disolventes y compuestos ampliamente utilizados que se encuentran en el humo del tabaco, muchos de los cuales son **procarcinógenos**; es inducido por el **etanol**, por lo que incrementa el riesgo de la carcinogenicidad.

Los compuestos naturales en los alimentos también pueden afectar el citocromo P450. La toronja contiene una variedad de furanocumarinas, que inhiben el citocromo P450 y afectan el metabolismo de muchos medicamentos. Algunos fármacos son activados por el citocromo P450, por lo que la toronja reducirá su actividad; otros son inactivados por el citocromo P450, por lo que la toronja aumenta su actividad. Los medicamentos que se afectan incluyen las estatinas, el omeprazol, los antihistamínicos y los antidepresivos tipo benzodiacepinas.

El **polimorfismo** de los citocromos P450 puede explicar gran parte de la variación en las respuestas de los medicamentos por diferentes pacientes; las variantes con baja actividad catalítica conducirán a un metabolismo más lento del sustrato y, por tanto, a una acción prolongada del medicamento. El **CYP2A6** seá involucra en el metabolismo de la **nicotina** en conitina. Se han identificado tres alelos de *CYP2A6*: un tipo salvaje y dos alelos inactivos. Los individuos con los alelos nulos que tienen un metabolismo alterado de la nicotina en aparencia están protegidos de convertirse en fumadores dependientes del tabaco. Estas personas fuman menos, presumiblemente porque sus concentraciones de nicotina en la sangre y el cerebro permanecen elevadas durante más tiempo, que las de los individuos con el alelo salvaje. Se ha especulado que la inhibición del CYP2A6 puede proporcionar una nueva forma de ayudar a dejar de fumar.

LAS REACCIONES DE CONJUGACIÓN EN EL METABOLISMO DE LA FASE 2 PREPARA A LOS XENOBIÓTICOS PARA LA EXCRECIÓN

En las reacciones de fase 1, los xenobióticos se convierten en derivados hidroxilados más polares. En las reacciones de fase 2, estos derivados son conjugados con moléculas como el ácido glucurónico, el sulfato o el glutatión. Esto los hace aún más solubles en agua, y finalmente se excretan en la orina o la bilis.

La glucuronidación es la reacción de conjugación más frecuente

La **glucuronidación** de la bilirrubina se analiza en el capítulo 31; los xenobióticos se glucuronizan de la misma manera, usando ácido UDP–glucurónico (véase figura 20-4), catalizado por una variedad de glucuronosiltransferasas, presentes tanto en el retículo endoplasmático como en el citosol. Las moléculas tales como 2–acetilaminofluoreno (un carcinógeno), anilina, ácido benzoico, meprobamato (un tranquilizante), fenol, y muchas hormonas esteroideas se excretan como glucurónidos. Así el glucurónido puede estar unido a grupos de oxígeno, nitrógeno o azufre de los sustratos.

Algunos alcoholes, arilaminas y fenoles están sulfatados

El **donante de sulfato** en estas y otras reacciones biológicas y de sulfatación (por ejemplo, la sulfatación de esteroides, glicosaminoglicanos, glucolípidos, y glucoproteínas) es el "sulfato activo" **adenosina-*3′-fosfato-5′-fosfosulfato*** (**PAPS**, *adenosine 3′–phosphate-5′–phosphosulfate*, véase capítulo 24).

El glutatión es necesario para la conjugación de compuestos electrofílicos

El tripéptido glutatión (γ–glutamil–cisteinil–glicina) es importante en el metabolismo de fase II de compuestos electrofílicos, forma conjugados *S* de glutatión que se excretan en la orina y la bilis. La reacción catalizada por el glutatión *S*–transferasas es:

$$R + GSH \rightarrow R\text{-}S\text{-}G$$

donde R es un compuesto electrofílico.

Existen cuatro clases de glutatión *S*–transferasa citosólica, y dos clases de enzima microsomal unida a la membrana, así como una clase *kappa* estructuralmente distinta que se encuentra en las mitocondrias y los peroxisomas. Las glutatión *S*–transferasas son homodímeros o heterodímeros de al menos siete tipos diferentes de subunidades y diferentes subunidades se inducen por diferentes xenobióticos.

Debido a que las glutatión *S*–transferasas también se unen a una cantidad de ligandos que no son sustratos incluyendo la bilirrubina, las hormonas esteroideas y algunos carcinógenos y sus metabolitos, a veces se conocen como **ligandina**. La glutatión *S*–transferasa se une a la bilirrubina en un sitio distinto del sitio del catalizador sitio, transportándolo desde el torrente sanguíneo al hígado, luego al retículo endoplasmático para la conjugación con el ácido glucurónico, y la excreción en la bilis (véase capítulo 31). La unión de carcinógenos los secuestra, previniendo así sus acciones sobre el ADN.

El hígado tiene una actividad muy alta de glutatión *S*–transferasa; *in vitro*, la totalidad del conjunto de glutatión se puede agotar en cuestión de minutos con la exposición a un sustrato xenobiótico. La actividad de la glutatión *S*–transferasa se regula de manera positiva en muchos tumores, lo que conduce a la resistencia a la quimioterapia.

Los conjugados de glutatión se pueden transportar fuera del hígado, donde son sustratos para las γ-glutamiltranspeptidasas y dipeptidasas extracelulares. Los conjugados *S* de cisteína resultantes son absorbidos por otros tejidos (en especial, el riñón) y los *N*–acetilados para producir ácidos mercaptúricos (*N*–acetilcisteína *S*–conjugados) que se excretan en la orina. Algunos conjugados *S* de glutatión hepático entran en los canalículos de la bilis, donde se descomponen en conjugados *S* de cisteína, que luego se absorben en el hígado para la *N*–acetilación, y se vuelven a excretar en la bilis.

Además de su función en el metabolismo de la fase 2, el glutatión tiene otras funciones en el metabolismo:

1. Proporciona el reductor para la reducción del **peróxido de hidrógeno** en agua en la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa (véase figura 20-3).
2. Es un **reductor y antioxidante intracelular** importante, lo que ayuda a mantener los grupos esenciales SH de las enzimas en su estado reducido.
3. Un ciclo metabólico que involucra al GSH como portador se ha implicado en el **transporte de algunos aminoácidos** a través de las membranas en el riñón. La primera reacción del ciclo está catalizada por la **γ–glutamiltransferasa** (GGT, γ-glutamyltransferase):

$$\text{Aminoácido} + GSH \rightarrow \gamma\text{-Glutamil aminoácido} + \text{Cisteinilglicina}$$

Esta reacción transfiere aminoácidos a través de la membrana plasmática, el aminoácido se hidroliza después de su complejo con el glutamato y el GSH se resintetiza a partir de la cisteinilglicina. La GGT está presente en la membrana plasmática de las células tubulares renales y las células del ducto biliar, también en el retículo endoplasmático de los hepatocitos. Se libera a la sangre desde las células hepáticas en diversas enfermedades hepatobiliares, proporcionando una indicación temprana de daño hepático.

OTRAS REACCIONES TAMBIÉN ESTÁN INVOLUCRADAS EN EL METABOLISMO DE LA FASE 2

Las dos reacciones más importantes además de la conjugación son la acetilación y la metilación.

La reacción de la **acetilación** es:

$$X + \text{Acetil-CoA} \rightarrow \text{Acetil-}X + CoA$$

donde *X* representa un xenobiótico o su metabolito. En cuanto a otras reacciones de acetilación, el **acetil-CoA** es el donante de acetilo. Estas reacciones se catalizan por las **acetiltransferasas** presen-

tes en el citosol de varios tejidos, de modo particular en el hígado. El medicamento **isoniazida**, utilizada en el tratamiento de la tuberculosis, está sujeto a la acetilación. Existe un polimorfismo de acetiltransferasas que da como resultado individuos que se clasifican como **acetiladores lentos o rápidos**. Los acetiladores lentos están más sujetos a los efectos tóxicos de la isoniazida porque el fármaco persiste durante más tiempo.

Algunos xenobióticos se encuentran sujetos a la **metilación** por las metiltransferasas, empleando la *S*–adenosilmetionina (véase figura 29-17) como donador de metilo.

LAS RESPUESTAS A LOS XENOBIÓTICOS INCLUYEN EFECTOS TÓXICOS, INMUNOLÓGICOS Y CARCINÓGENOS

Existen muy pocos xenobióticos, incluidos los medicamentos, que no tienen algunos efectos tóxicos si la dosis es lo suficientemente grande. Los **efectos tóxicos de los xenobióticos** cubren un amplio espectro, pero pueden considerarse bajo tres encabezamientos generales:

1. La unión covalente de metabolitos xenobióticos a macromoléculas incluyendo el **ADN**, **el ARN** y **la proteína** puede conducir a lesión celular (la **citotoxicidad**), que puede ser lo suficientemente grave como para producir la muerte celular. En respuesta al daño al ADN, se activa el **mecanismo de reparación del ADN** de la célula. Parte de esto implica la transferencia de múltiples unidades de ADP–ribosa a proteínas de unión al ADN, catalizadas por poli (ADP–ribosa polimerasa). La fuente de ADP–ribosa es el NAD, y en respuesta al daño severo del ADN hay un considerable agotamiento del NAD. A su vez, esto conduce a una formación de ATP severamente dañada, y a la muerte celular.

2. El metabolito reactivo de un xenobiótico puede unirse a una proteína, actuando como un hapteno y alterando su **antigenicidad**. Por sí solo no estimulará la producción de anticuerpos, pero lo hace cuando se une a una proteína. Los anticuerpos resultantes reaccionan no sólo con la proteína modificada, sino también con la proteína no modificada, lo que potencialmente inicia la **enfermedad autoinmune.**

3. Las reacciones de algunos xenobióticos activados con el **DNA** son importantes en la **carcinogénesis química**. Algunos químicos (por ejemplo, benzo [α] pireno) requieren activación por el citocromo P450 en el retículo endoplasmático para convertirse en cancerígenos (por tanto, se denominan **carcinógenos indirectos**). Las actividades de las enzimas metabolizadoras de los xenobióticos presentes en el retículo endoplasmático ayuda a determinar si dichos compuestos se vuelven carcinógenos o están "desintoxicados".

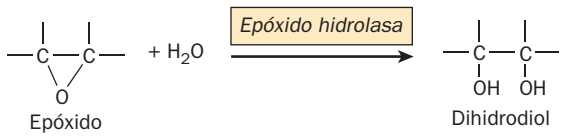


FIGURA 47-1 **La reacción de la epóxido hidrolasa.**

La enzima **epóxido hidrolasa** en las membranas del retículo endoplasmático puede tener protección contra algunos carcinógenos. Los productos de la acción del citocromo P450 en algunos sustratos procarcinógenos son **epóxidos**. Los epóxidos son altamente reactivos y mutagénicos o cancerígenos. Como se muestra en la figura 47-1, la hidrolasa cataliza la hidrólisis de epóxidos a dihidrodioles menos reactivos.

RESUMEN

- Los xenobióticos son compuestos químicos extraños para el cuerpo que incluyen los medicamentos, los aditivos alimentarios y los contaminantes ambientales, así como compuestos naturales en los alimentos vegetales.
- Los xenobióticos se metabolizan en dos fases. La principal reacción de la fase 1 es la hidroxilación catalizada por una variedad de monooxigenasas conocidas como los citocromos P450. En la fase 2, las especies hidroxiladas se conjugan con una variedad de compuestos hidrófilos como el ácido glucurónico, el sulfato o el glutatión. La operación combinada de estas dos fases convierte los compuestos lipófilos en compuestos solubles en agua que pueden excretarse en la orina o la bilis.
- Los citocromos P450 catalizan reacciones que introducen un átomo de oxígeno derivado del oxígeno molecular en el sustrato, produciendo un producto hidroxilado; y el otro en agua. El NADPH y la reductasa NADPH–citocromo P450 están involucrados en el mecanismo de reacción.
- Los citocromos P450 son hemoproteínas y tienen una amplia especificidad de sustrato que actúa sobre muchos sustratos exógenos y endógenos. Al menos 57 genes del citocromo P450 se encuentran en el tejido humano.
- Los citocromos P450, por lo general, se localizan en el retículo endoplasmático de las células, especialmente en el hígado.
- Muchos citocromos P450 son inducibles. Esto tiene implicaciones importantes para las interacciones entre medicamentos.
- Las reacciones de conjugación de fase 2 se catalizan por enzimas como las glucuroniltransferasas, las sulfotransferasas y las glutatión S–transferasas, usando al ácido UDP–glucurónico, la PAPS (sulfato activo) y el glutatión como donantes, respectivamente.
- El glutatión no sólo desempeña una función importante en las reacciones de fase 2, sino que también es un agente reductor intracelular.
- Los xenobióticos pueden producir una variedad de efectos biológicos que incluyen toxicidad, reacciones inmunológicas y cáncer.

CAPÍTULO

48

Bioquímica clínica

David A. Bender, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Explicar la importancia de las pruebas de laboratorio en la medicina clínica y veterinaria.
- Explicar qué significa el rango de referencia para los resultados de una prueba.
- Explicar la diferencia entre la precisión y la exactitud de un método de ensayo, así como la sensibilidad y la especificidad del mismo.
- Explicar qué se entiende por sensibilidad, especificidad y valor predictivo de una prueba de laboratorio.
- Enumerar las técnicas más usadas en un laboratorio de diagnóstico que realiza pruebas bioquímicas y explicar el principio de cada método.
- Explicar por qué las altas concentraciones plasmáticas de enzimas se consideran indicadores de daño tisular.
- Describir en líneas generales los diferentes requerimientos para medir una enzima en una muestra de plasma y el uso de una enzima para medir un analito.

LA IMPORTANCIA DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN MEDICINA

Diversas pruebas de laboratorio son una parte esencial de la medicina y la práctica veterinaria. Las pruebas bioquímicas pueden utilizarse para la detección de enfermedades, para la confirmación (o no) de una diagnosis realizada en el examen clínico, para controlar la progresión de una enfermedad y el resultado del tratamiento. Las muestras de sangre y orina son las más comúnmente usadas; ocasionalmente pueden usarse heces, saliva o líquido cefalorraquídeo (CSF, *cerebrospinal fluid*) y, en raras ocasiones, muestras de biopsias de los tejidos. La mayor parte de nuestro conocimiento y comprensión de las causas subyacentes de las enfermedades metabólicas y de los efectos de la enfermedad en el metabolismo proviene del análisis de los metabolitos en la sangre y la orina, y de la medición de las enzimas en la sangre. A su vez, ese conocimiento ha permitido avances en el tratamiento de las enfermedades y el desarrollo de medicamentos más efectivos.

Los avances en la tecnología significan que muchas pruebas que antes sólo se realizaban en laboratorios especializados ahora se pueden realizar al lado de la cama, en el consultorio del médico o en la práctica veterinaria, a veces incluso en el hogar por los propios pacientes, con máquinas automáticas o "tiras reactivas" fáciles de usar. Todavía se realizan otras pruebas en laboratorios en los hospitales o en laboratorios privados de química clínica, con muestras enviadas por el médico remitente. Algunas pruebas que se solicitan con menos frecuencia y que pueden ser técnicamente más exigentes sólo se hacen en centros especializados. A menudo implican técnicas especiales para estudiar enfermedades metabólicas raras (y algunas veces recién descubiertas). Además, las pruebas de muestras de los atletas y los caballos de carrera para las drogas que mejoran el rendimiento y otras sustancias prohibidas normalmente se llevan a cabo sólo en un número limitado de laboratorios con licencia especial.

CAUSAS DE ANOMALÍAS EN LOS NIVELES DE LOS ANÁLISIS MEDIDOS EN EL LABORATORIO

Una gran cantidad de diferentes condiciones pueden conducir a anormalidades en los resultados de las pruebas de laboratorio. La lesión tisular que da como resultado daño a las membranas celulares y un aumento en la permeabilidad de la membrana plasmática conduce a la fuga del material intracelular al torrente sanguíneo (por ejemplo, filtración de creatina quinasa MB al torrente sanguíneo después de un infarto de miocardio). En otros casos, la síntesis de proteínas y hormonas aumenta o disminuye (por ejemplo, la proteína C reactiva en los estados inflamatorios o las hormonas en los trastornos endocrinos). El fallo renal y hepático conduce a la acumulación de una serie de compuestos en la sangre (por ejemplo, la creatinina y la bilirrubina, respectivamente) debido a la incapacidad del órgano dañado para excretar o metabolizar el compuesto afectado.

EL RANGO DE REFERENCIA

Para cualquier compuesto medido (un analito), existe un rango de valores alrededor del promedio o media que puede considerarse normal. Este es el resultado de las variaciones biológicas entre los individuos. Además, pueden ocurrir variaciones de un día a otro o de una semana a otra en los resultados para el mismo individuo. Por tanto, el primer paso para establecer cualquier prueba nueva de laboratorio para el pesquizaje o el diagnóstico de una enfermedad o el control del tratamiento es determinar el rango de resultados en una población de personas sanas. Para algunas pruebas, esto también significará determinar los rangos normales de los analitos en personas de diferentes edades. El rango normal de algunos analitos será diferente entre hombres y mujeres, y puede haber diferencias entre los grupos étnicos, lo cual debe ser considerado.

Si los resultados obtenidos para un grupo objetivo de población saludable (según la edad, el sexo y quizá la etnia) están estadísticamente distribuidos normalmente (es decir, los resultados muestran una distribución gaussiana simétrica alrededor de la media), entonces se toma el rango aceptable o normal que es $\pm 2 \times$ desviación estándar alrededor de la media. Este rango incluye 95% de la población objetivo, y se conoce como el rango de referencia. Los valores fuera del rango de referencia se consideran anormales, por lo que merecen una investigación más a fondo. Si los resultados de la población sana no están estadísticamente distribuidos normalmente, sino sesgados, se requiere un paso adicional de manipulación estadística antes de que se pueda establecer el rango de referencia de 95%.

Para algunas pruebas, los resultados a partir de diferentes laboratorios serán distintos, generalmente porque usan métodos de medición diversos. Cada laboratorio establece sus propios rangos de referencia para los análisis que realiza. Algunos laboratorios reportan los resultados con el valor; otros informan los resultados como el número de desviaciones estándar de la media, la llamada puntuación Z. Esto le permite al médico ver cuán lejos está el resultado de la media, en otras palabras, cuán anormal es. A veces los resultados serán informados como 5 o 10 veces (o más) por encima del límite superior de lo normal.

El uso del rango 95% como parámetro de referencia tiene una consecuencia desafortunada. Por azar, 5% de los resultados "normales" estarán fuera de ese rango de referencia. Esto se hizo evidente por primera vez en la década de 1970, cuando se desarrollaron analizadores multicanal que fueron capaces de determinar 20 o más analitos en cada muestra. Casi todas las muestras dieron un resultado que estaba fuera del rango de referencia, pero cuando la misma persona dio una muestra unos días después, ese resultado aparentemente anormal estaba ahora dentro de la categoría normal, aunque por azar, el resultado de otro analito ahora podría estar fuera del rango de referencia.

VALIDEZ DE LOS RESULTADOS DE LABORATORIO

Los laboratorios de diagnóstico están sujetos a procedimientos de inspección y reglamentación para evaluar la validez de sus resultados y garantizar el **control de la calidad** de sus informes. Tales medidas asegurarán que el valor de la concentración, la actividad o la cantidad informada de una sustancia en una muestra represente el mejor valor que se puede obtener con el método, los reactivos y los instrumentos utilizados.

Al establecer una nueva prueba o un nuevo método, deben responderse cuatro preguntas:

1. **¿Qué tan preciso es el método?** Esta es una medida de la reproducibilidad del método. Si la misma muestra es analizada muchas veces, ¿cuánta variación se verá en los resultados obtenidos? La **figura 48-1** ilustra esto. En este ejemplo, un conjunto de resultados es mucho más preciso que el otro (hay una diferencia entre los dos en la diseminación de los resultados alrededor de la media), aunque tienen el mismo resultado promedio. La precisión no es absoluta, sino que está sujeta a las variaciones inherentes a la complejidad del método utilizado, la estabilidad de los reactivos, la sofisticación del equipo usado para el ensayo y la habilidad de los técnicos involucrados.

2. **¿Qué tan exacto es el resultado?** Esta es una medida de qué tan cerca está el resultado del valor verdadero. La **figura 48-2** muestra los resultados de los ensayos por dos métodos diferentes o por el mismo, pero en dos laboratorios distintos. Ambos tienen una precisión similar, pero sus valores medios son muy desiguales. A partir de esta información no es posible definir qué laboratorio es el correcto (y esta es una de las razones por la cual los laboratorios establecen sus propios rangos de referencia). Existen varios esquemas nacionales o regionales de control de la calidad en los que todos los laboratorios participantes envían la misma muestra (combinada) de sangre u orina. Cada laboratorio mide los diversos analitos en la muestra agrupada. Los resultados obtenidos por todos los laboratorios se trazan como una curva de distribución. La media de estos valores se calcula y se considera como el "valor verdadero". Este esquema de control de la calidad permite a cada laboratorio participante determinar qué tan cerca están sus resultados de ese "valor verdadero".

FIGURA 48-1 Precisión de un método analítico. El gráfico muestra los resultados de un analito medido varias veces en la misma muestra, ya sea por dos métodos analíticos diferentes o por el mismo método en dos laboratorios distintos. En ambos casos, el resultado promedio es el mismo. Sin embargo, un método o laboratorio, mostrado en azul, tiene una baja dispersión de los resultados y, por tanto, una baja desviación estándar y alta precisión, mientras que el otro, mostrado en rojo, tiene una alta dispersión de los resultados, una alta desviación estándar y baja precisión.

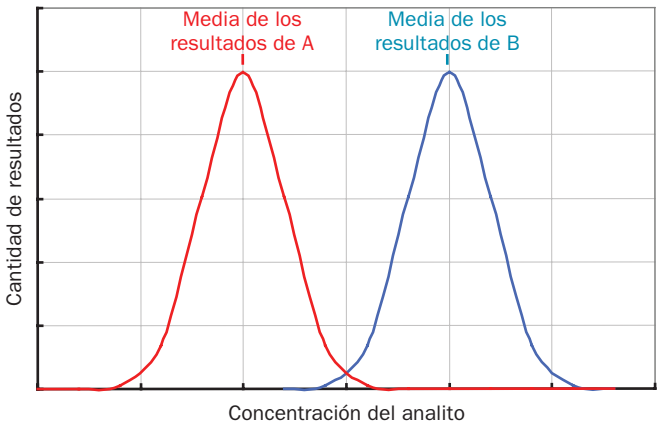


FIGURA 48-2 **Exactitud de un método analítico.** Dos métodos analíticos diferentes, realizados en muestras múltiples, o el mismo método realizado en dos laboratorios diferentes, con la misma dispersión de resultados y, por tanto, la misma desviación estándar y la misma precisión. Sin embargo, los valores medios de los analitos obtenidos para los dos métodos son muy diferentes; no es posible decir qué resultado está más cerca del valor verdadero.

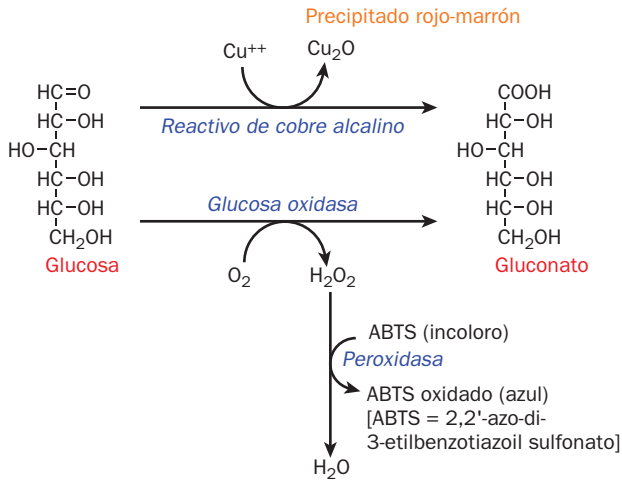


FIGURA 48-3 **Especificidad de un método analítico.** Medición de la glucosa en la sangre por dos métodos. La reducción química de Cu^{2+} en la solución alcalina detectará no sólo la glucosa, sino cualquier otro azúcar reductor y otras sustancias como la vitamina C. La oxidación enzimática de la glucosa usando glucosa oxidasa es una reacción específica; ningún otro compuesto será oxidado y contribuirá al valor obtenido.

3. **¿Qué tan sensible es el método?** En otras palabras, ¿qué cantidad mínima del analito se puede determinar de manera confiable? ¿Cuál es el límite inferior de detección confiable? Esto es importante cuando los resultados debajo del rango de referencia son clínicamente significativos, o cuando las muestras se analizan para narcóticos o sustancias para mejorar el rendimiento que están prohibidas en el deporte de competición.

4. **¿Qué tan específico es el método?** Esta pregunta trata sobre la cuestión de la confianza de que el ensayo realmente está midiendo el analito de interés. Por ejemplo, el método ahora obsoleto de medir la glucosa en sangre u orina usaba una solución de cobre alcalino (Cu^{2+}), que se reducía a Cu^{+} por la glucosa. Sin embargo, otros compuestos reductores en la orina o la sangre, como la xilosa o la vitamina C, también reducen la glucosa dando un valor falsamente alto. Los métodos modernos para medir la glucosa dependen de la enzima glucosa oxidasa, que sólo reacciona con la glucosa, por lo que es muy específica. Uno de los productos de la acción de la glucosa oxidasa sobre la glucosa es el peróxido de hidrógeno; el segundo paso en el ensayo es reducir el peróxido de hidrógeno producido a agua y oxígeno, usando la peroxidasa. En el medio de ensayo también está presente un compuesto incoloro que se vuelve azul cuando se oxida por el oxígeno producido. Altas concentraciones de vitamina C, como se vería cuando el paciente está tomando suplementos vitamínicos, reducen el tinte nuevamente a su forma incolora, dando así un resultado falso negativo (**figura 48-3**).

EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ CLÍNICA DE UNA PRUEBA DE LABORATORIO

Los cuatro criterios anteriores deben establecerse para cada método analítico. Además, el valor clínico de la prueba debe ser establecido teniendo en cuenta su sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos (**cuadro 48-1**). Aquí, desafortunadamente, se usan los mismos dos términos, sensibilidad y especificidad, pero con significados muy diferentes a los utilizados para establecer el método analítico.

La **sensibilidad** de una prueba es el **porcentaje de resultados de la prueba positivos en pacientes con la enfermedad** (**"verdadero positivo"**). Por ejemplo, la prueba para la fenilcetonuria es altamente sensible; se obtiene un resultado positivo en todos los que tienen la enfermedad (100% de sensibilidad). Por el contrario, la prueba del antígeno carcinoembrionario (CEA, *carcinoembryonic antigen*) para el carcinoma de colon tiene una sensibilidad menor; sólo 72% de aquellos con carcinoma de colon dan positivo cuando la enfermedad es extensa, y sólo 20% en el inicio de la enfermedad.

La **especificidad** de una prueba es el porcentaje de resultados negativos de la misma entre las personas que no tienen la enfermedad. La prueba para la fenilcetonuria es altamente específica; 99.9% de los individuos normales dan un resultado negativo; sólo 0.1% da un resultado falso positivo. Por el contrario, la prueba CEA tiene una especificidad variable; aproximadamente 3% de los individuos no fumadores dan un resultado falso positivo (97% de especificidad), mientras que 20% de los fumadores dan un resultado falso positivo (80% de especificidad).

La sensibilidad y especificidad de una prueba están inversamente relacionadas entre sí. Si el punto de corte es demasiado alto, muy pocas personas sanas darán un resultado falso positivo, pero muchas personas con la enfermedad pueden dar un resultado falso negativo. La sensibilidad será baja, pero la especificidad será alta. Por el contrario, si el punto de corte es demasiado bajo, se detectarán casi todas las personas con la enfermedad (la prueba tendrá una sensibilidad alta), pero más personas sin enfermedad pueden dar un resultado falso positivo (la prueba tendrá un nivel bajo de especificidad).

El **valor predictivo de una prueba positiva** (valor predictivo positivo) es el porcentaje de resultados positivos que son verdaderos positivos. Del mismo modo, **el valor predictivo de una prueba ne-**

CUADRO 48-1 Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos en una prueba de laboratorio

		¿El paciente tiene la enfermedad?	
		Sí	**No**
¿Cuál es el resultado de la prueba?	**Positiva**	Verdadero positivo (a)	Falso positivo (b)
	Negativa	Falso negativo (c)	Verdadero negativo (d)
Sensibilidad	=	$\frac{\text{Verdadero positivo (a)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen la enfermedad (a + c)}}$	
Especificidad	=	$\frac{\text{Verdadero negativo (d)} \times 100}{\text{Número de pacientes que no tienen la enfermedad (b + d)}}$	
Valor predictivo positivo	=	$\frac{\text{Verdadero positivo (a)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen una prueba positiva (a + b)}}$	
Valor predictivo negativo	=	$\frac{\text{Verdadero negativo (d)} \times 100}{\text{Número de pacientes que tienen una prueba negativa (c + d)}}$	

gativa (valor predictivo negativo) es el porcentaje de resultados negativos que son verdaderos negativos. Esto está relacionado con la prevalencia de la enfermedad. Por ejemplo, en un grupo de pacientes en una sala de urología, la prevalencia de la enfermedad renal es más alta que en la población general. En este grupo, la concentración sérica de la creatinina tendrá un valor predictivo más alto que en la población general. Las herramientas para calcular la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de una prueba de diagnóstico se muestran en el cuadro 48-1.

MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

Las muestras usuales para el análisis son la sangre y la orina. La sangre se recoge en tubos con o sin un anticoagulante, dependiendo de si se requiere plasma o suero. Con menos frecuencia, se pueden usar muestras de saliva, CSF o heces.

Existe una diferencia entre la medición de un analito en una muestra de sangre y en una de orina. La concentración de un analito en la sangre refleja los niveles en el momento en que esta se tomó, mientras que en la orina representa la excreción acumulada del analito durante un espacio de tiempo. Otra diferencia es que es habitual informar los resultados de los análisis de sangre como la cantidad de analito (o actividad de la enzima) por mililitro o litro de sangre (o plasma o suero). Informar la concentración del analito en la orina de la misma manera no es útil, ya que el volumen de orina depende en gran medida de la ingesta de líquidos. En algunos casos, se le pide al paciente que proporcione una muestra completa de orina de 24 horas; este es un procedimiento tedioso, y es difícil saber si realmente ha habido una colección completa de 24 horas. Alternativamente, la concentración del analito se informa por mol de creatinina. La excreción de la creatinina es razonablemente constante día a día para cualquier individuo, pero varía entre individuos porque depende principalmente de la masa muscular; la creatinina se forma no enzimáticamente a partir de la creatina y el fosfato de creatina, la mayoría de los cuales se encuentra en el músculo esquelético.

Aparte de la medición de los gases en la sangre, para lo que se requieren muestras arteriales, las muestras de sangre son usualmente de sangre venosa. La glucosa en sangre a menudo se mide en la sangre capilar a partir de un pinchazo en el dedo. Algunos análisis usan sangre completa; otros requieren suero o plasma. Para una muestra de suero, la sangre se deja coagular, luego los glóbulos rojos y el coágulo de fibrina se eliminan por centrifugación. Para una muestra de plasma, la sangre se recoge en un tubo que contiene un anticoagulante, y los glóbulos rojos se eliminan por centrifugación. La diferencia entre el suero y el plasma es que el plasma contiene protrombina y otros factores de coagulación, incluido el fibrinógeno, mientras que el suero no. Diferentes anticoagulantes (citrato, EDTA u oxalato, todos los cuales quelan el calcio y así inhiben la coagulación) se usan para la recolección de muestras de plasma, dependiendo del ensayo que se va a realizar. La heparina, que actúa activando la antitrombina III, también se utiliza. Para medir la glucosa en sangre, se agrega fluoruro de potasio, como inhibidor de la glucólisis por los glóbulos rojos.

TÉCNICAS UTILIZADAS EN QUÍMICA CLÍNICA

La mayoría de las reacciones químicas clínicas de rutina implican vincular una reacción química o enzimática con el desarrollo de un producto coloreado que se mide mediante **espectrofotometría de absorción**. Diferentes compuestos absorben luz a diferentes longitudes de onda; la energía de la luz absorbida excita los electrones a un orbital inestable. La absorbancia de la luz a una longitud de onda específica en el rango visible o ultravioleta es directamente proporcional a la concentración del producto final coloreado y, por tanto, a la concentración del analito en la muestra. Aunque en un momento dado tales análisis se realizaron de forma manual, hoy la mayoría de los ensayos son automáticos, y un solo instrumento puede llevar a cabo múltiples ensayos en una sola muestra.

En la espectrofotometría de absorción, los electrones excitados vuelven a su estado basal en una serie de pequeños saltos cuánticos, emitiendo la energía absorbida en forma de calor. Para algunos compuestos, los electrones vuelven a un estado de energía más bajo en un solo salto de *quántum*, emitiendo la luz de una longitud de onda más alta (energía más baja) que la luz de excitación. Esto es la fluorescencia, y la técnica se conoce como **espectrofotometría**

de fluorescencia o **espectrofotofluorimetría**. La muestra se ilumina con la luz de una longitud de onda específica, y la luz emitida se mide en ángulo recto a la dirección de la longitud de onda iluminante. De nuevo, la intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración del fluoróforo y, por tanto, a la concentración del analito. La fluorimetría permite una mayor especificidad y sensibilidad del ensayo. La especificidad es mayor que para la espectrofotometría de absorción porque tanto la longitud de onda de excitación como la longitud de onda emitida son específicas para el fluoróforo, mientras que para la espectrofotometría de absorción sólo se establece una longitud de onda, la de la luz que se absorbe. La fluorimetría es más sensible porque es más fácil detectar la emisión de una pequeña cantidad de luz que la absorción.

Con frecuencia, especialmente en la investigación y los centros de especialización, se analizan múltiples analitos en la misma muestra usando **cromatografía líquida de alta presión** para analizar los analitos, seguido de la detección colorimétrica, fluorimétrica o electroquímica, o se relacionan con la espectrometría de masas para identificar los compuestos. Dichos métodos forman la base de la **metabolómica**, el estudio de toda una gama de metabolitos en una sola muestra, y la **metabonómica**, el estudio de los cambios en los analitos en respuesta a un fármaco o a un tratamiento experimental de algún tipo.

Históricamente, los **electrolitos** como el sodio y el potasio se midieron mediante **fotometría de llama**, analizando la luz emitida cuando el ion se introducía en una llama clara. El sodio da una llama amarilla y el potasio una púrpura. Hoy día, estos y otros iones se miden usando **electrodos específicos de iones**. En algunos casos, los iones metálicos se miden por **espectrometría de absorción atómica**. Aquí la muestra se introduce en una llama y se ilumina a una longitud de onda específica. La energía de la luz absorbida excita los electrones a un orbital inestable, y la absorción de la luz es directamente proporcional a la concentración del elemento en la muestra, como es el caso de la espectrofotometría de absorción.

Enzimas en química clínica

Las enzimas son importantes en la química clínica de tres maneras diferentes: para medir los analitos en una muestra; para medir la actividad de las enzimas en una muestra; y como una prueba del estado nutricional de la vitamina.

El uso de una enzima para medir la concentración de un analito confiere un alto grado de especificidad al ensayo, ya que, en general, una enzima actuará sobre un solo sustrato o una pequeña gama de sustratos estrechamente relacionados, mientras que una reacción química simple puede responder a una variedad de analitos (posiblemente no relacionados). Por ejemplo, como se muestra en la figura 48-3, una variedad de compuestos reductores reaccionará con un reactivo de cobre alcalino para dar un resultado falso positivo para la glucosa, mientras que el ensayo enzimático que usa glucosa oxidasa sólo dará un resultado positivo para la glucosa, y no para otros compuestos reductores.

Cuando se usa una enzima para detectar un analito, el factor limitante en el ensayo debe ser el analito mismo; la enzima y otros reactivos deben estar presentes en exceso. Lo que es más importante, la concentración del analito en la muestra debe ajustarse para estar por debajo de la K_m de la enzima, de modo que haya un gran cambio en la velocidad de la reacción con una pequeña variación en la concentración del analito (región A en la **figura 48-4**).

Cuando las células se dañan o mueren, su contenido se filtra al torrente sanguíneo. La medición de las enzimas en el plasma puede, por tanto, usarse para detectar el daño tisular; la información se obtiene del patrón de las enzimas liberadas (e isoenzimas específicas del tejido). La extensión del aumento de la actividad enzimática en el plasma por encima del rango normal a menudo indica la gravedad del daño tisular. Cuando un ensayo es para determinar la actividad de una enzima en el plasma, el factor limitante debe ser la enzima misma. La concentración del sustrato añadido debe ser considerablemente superior a la K_m de la enzima, de modo que la enzima está actuando en $V_{máx}$ o cerca de ella, e incluso un cambio relativamente grande en la concentración del sustrato no tiene un efecto significativo sobre la tasa de reacción (región B en la **figura 48-4**). En la práctica, esto significa que la concentración del sustrato añadido es aproximadamente 20 veces mayor que la K_m de la enzima.

Si una enzima tiene una coenzima derivada de la vitamina que es esencial para la actividad, entonces la medición de la actividad de la enzima en los glóbulos rojos con y sin la coenzima añadida se puede utilizar como un índice del estado nutricional de la vitamina. Esto proporciona una indicación del estado nutricional funcional, mientras que la medida de la vitamina y sus metabolitos puede reflejar la ingesta reciente más que la suficiencia fisiológica. La suposición subyacente es que los glóbulos rojos tienen que competir con otros tejidos en el cuerpo por lo que puede existir un suministro limitado de la coenzima. Por tanto, la medida en que la enzima en los glóbulos rojos está saturada con su coenzima reflejará la disponibilidad de la coenzima durante un espacio de tiempo co-

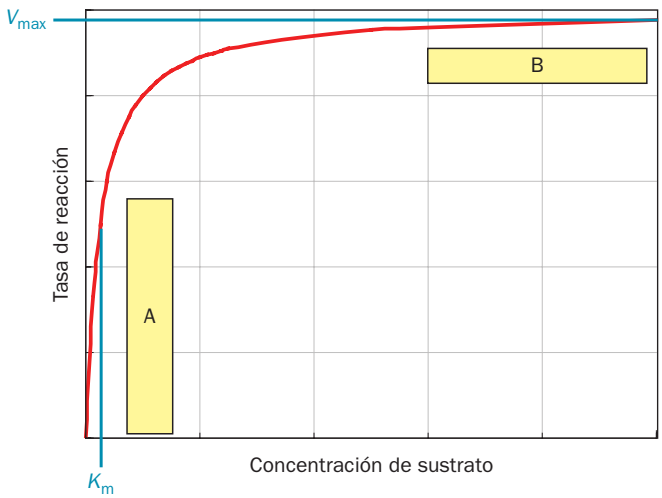


FIGURA 48-4 Uso de las enzimas para medir los analitos y medir la actividad enzimática en muestras biológicas. A concentraciones de sustrato (analito) por debajo de la K_m de la enzima (región A en el gráfico), hay un aumento muy brusco en la velocidad de la reacción con un pequeño cambio en la concentración del analito, por lo que el ensayo enzimático tiene la mayor sensibilidad en este rango de concentración. A concentraciones de sustrato considerablemente superiores a la K_m de la enzima, cuando la enzima se aproxima a la $V_{máx}$, (región B en el gráfico), es la cantidad de enzima en la muestra la que limita la velocidad de formación del producto, de modo que este es el rango apropiado de concentración del sustrato a usar para medir la actividad enzimática en una muestra biológica.

rrespondiente a la vida media de los glóbulos rojos. El ensayo consiste en incubar dos muestras del lisado de glóbulos rojos: uno que ha sido preincubado con, y otro sin, la adición de la coenzima. Luego se agrega sustrato a ambos y se mide la actividad de la enzima. En la muestra preincubada sin la adición de la coenzima, sólo la enzima que tenía la coenzima unida (la holoenzima) estará activa. En la muestra que se preincubó con la coenzima, cualquier apoenzima (proteína enzimática inactiva sin coenzima enlazada) se habrá activado a holoenzima. Por tanto, siempre que no hay ningún cambio en la actividad enzimática con la adición de la coenzima, indica la saturación completa de la enzima con la coenzima, o un aumento en la actividad, refleja la activación de la apoenzima mediante la coenzima añadida. Los resultados se informan como el **coeficiente de activación** enzimática (la relación de la actividad en la muestra preincubada con la coenzima: sin ella). Los rangos de referencia para el coeficiente de activación se establecen de la misma manera que para cualquier otra prueba. Tales ensayos de activación enzimática están disponibles para la tiamina (vitamina B_1, utilizando la transcetolasa de los glóbulos rojos), riboflavina (vitamina B_2, usando la glutatión reductasa de los glóbulos rojos) y vitamina B_6 (usando una u otra de las transaminasas de los glóbulos rojos).

Ensayos competitivos de unión al ligando e inmunoensayos

Si existe una proteína que se una al analito, y el analito (ligando) unido y libre se puede separar y medir, entonces es posible idear un ensayo para el analito. Tal vez el ensayo más simple de unión al ligando es el de la hormona cortisol, que se transporta en el torrente sanguíneo unido a una globulina específica que se une al cortisol. Es fácil preparar una muestra de plasma que contiene la globulina fijadora que ha sido despojada de su ligando (cortisol) por incubación con óxido de aluminio o carbón vegetal. Esto se hace usando una muestra agrupada relativamente grande de plasma, que proporciona globulina ligante para una gran cantidad de ensayos. La hormona se extrae de cada muestra para analizarla, usando un disolvente orgánico, se evapora a sequedad, luego se disuelve en etanol y en un tampón adecuado, con la adición de una cantidad trazadora de la hormona radiactiva de alta actividad específica. A continuación, cada muestra se incuba con la globulina de unión a 37 °C, luego se enfría a 4 °C. Se agrega carbón para adsorber el ligando no unido, y se elimina rápidamente por centrifugación. Se mide la radiactividad en el sobrenadante. Esto da la cantidad de ligando unido, y se expresa como un porcentaje de la radiactividad total añadida a cada muestra. Se construye una curva estándar usando cantidades conocidas de la hormona, de modo que se puede determinar la concentración de la hormona en las muestras.

Se puede medir una amplia variedad de otras hormonas y otros analitos de la misma manera, elevando los anticuerpos monoclonales o los antisueros policlonales contra el analito, por ejemplo, inyectando el analito unido covalentemente a una proteína en un animal. El antisuero contra una hormona producido en un solo conejo se puede usar para muchos miles de ensayos. Cada lote de antisuero debe, por supuesto, probarse para determinar su especificidad por la hormona (asegurándose de que no se una a las hormonas relacionadas, un problema especialmente con las hormonas esteroides), y su sensibilidad. Cuando la proteína de unión es un anticuerpo o antisuero, el ensayo generalmente se denomina **radioinmunoensayo**.

En una variante del ensayo de unión competitiva, el anticuerpo se une covalentemente a la superficie de las perlas. Entonces es fácil separar el ligando unido y libre simplemente lavando las perlas con tampón enfriado con hielo, dejando el ligando unido a las perlas para la medición de la radiactividad unida. Alternativamente, el anticuerpo se puede unir covalentemente a la superficie del tubo de ensayo, o a cada pocillo en una placa de pocillos múltiples. Después de la incubación, se toma una muestra del medio de incubación para medir la radiactividad que no está unida.

Cada vez más, con el fin de minimizar la exposición a los materiales radiactivos, se usa el ligando o el anticuerpo marcado fluorescentemente. Un desarrollo adicional es el ensayo en sándwich, en el que se usan dos anticuerpos diferentes contra el ligando, cada uno de los cuales se une a una región diferente (epítope) del analito. El primer anticuerpo se une covalentemente a la superficie de cada pocillo de una placa de múltiples pocillos, y la muestra se agrega e incuba. Después de eliminar el medio de incubación y lavar cada pocillo, se agrega el segundo anticuerpo, intercalando el analito entre los dos anticuerpos. El segundo anticuerpo se marca con un isótopo radiactivo o un fluoróforo, lo que permite la medición del segundo anticuerpo unido, y por tanto del ligando unido. En algunos casos, el segundo anticuerpo se marca con una enzima y la medición del segundo anticuerpo unido, y por tanto del ligando unido, se realiza midiendo la actividad de la enzima que ahora está unida a la pared de cada célula de la placa, después del lavado para eliminar el segundo anticuerpo no unido y agregar un exceso del sustrato de la enzima. Este es el ensayo **inmunoabsorbente ligado a enzimas** (**ELISA**, *enzyme-linked immunosorbent assay*).

Tira reactiva de química seca

Para una serie de ensayos, las enzimas o los anticuerpos y los reactivos se pueden combinar en una tira de plástico. Para medir la glucosa en la sangre, se coloca una muestra de sangre con punción digital en la tira de prueba que contiene glucosa y los reactivos que se muestran en la figura 48-3. La intensidad del color azul formado, y por tanto la concentración de la glucosa, se mide usando un dispositivo de mano llamado glucómetro. Esto proporciona un método simple y confiable para estimar la glucosa al lado de la cama en un pabellón de un hospital, una clínica de un médico o incluso en el hogar. Para las pruebas de orina, se pueden incluir varios ensayos diferentes como los gránulos separados en una varilla de plástico llamada varilla medidora, por ejemplo, para detectar o estimar de forma semicuantitativa los niveles de glucosa, cuerpos cetónicos, proteínas y varios otros analitos al mismo tiempo. Hay tiras reactivas similares disponibles para detectar la gonadotropina coriónica humana (hCG, human chorionic gonadotropin) en la orina, como una prueba de embarazo en el hogar.

Pesquisaje de neonatos para errores congénitos del metabolismo

Muchos de los errores congénitos del metabolismo pueden llevar a un retraso mental muy severo si el tratamiento no se inicia lo suficientemente temprano. Por condiciones como la fenilcetonuria y la enfermedad urinaria jarabe de arce, la restricción dietética de los aminoácidos que no se metabolizan normalmente (fenilalanina en la fenilcetonuria, los aminoácidos de la cadena ramificada de la leucina, la isoleucina y la valina en la enfermedad urinaria de jarabe de arce) es esencial para el control de la condición. Por tanto, es habitual en la mayoría de los países desarrollados detectar los neo-

natos en tales condiciones. La concentración del (de los) aminoácido (s) ofensivo se mide en una muestra de sangre que normalmente se toma una semana después del nacimiento, cuando las enzimas que se ven afectadas por la enfermedad deberían haber alcanzado su plena expresión. Comúnmente, se toma con un pinchazo en el talón una muestra de sangre capilar y se transfiere a un papel absorbente para enviarla al laboratorio para su análisis.

La primera prueba de pesquisaje para detectar un error innato del metabolismo fue la prueba de inhibición bacteriana Guthrie. Un disco del papel que contiene la muestra de sangre se coloca en una placa de agar que ha sido sembrada con una cepa de *Bacillus subtilis* que requiere fenilalanina, junto con un inhibidor competitivo de la absorción de la fenilalanina en la bacteria (β-tienilalanina) en tal concentración que competirá con la fenilalanina en los niveles que normalmente se encuentran en la sangre, de modo que las bacterias no crecerán. Si la concentración de la fenilalanina es mayor que la que se encuentra habitualmente en la sangre, la bacteria la absorberá a pesar del inhibidor y las bacterias formarán colonias visibles en el agar.

En la mayoría de los centros, la prueba de inhibición bacteriana ha sido reemplazada por técnicas cromatográficas que permiten la detección de una variedad de metabolitos anormales y, por tanto, la detección de una variedad de diferentes errores innatos del metabolismo.

PRUEBAS DE LA FUNCION DEL ÓRGANO

Las pruebas que brindan información sobre el funcionamiento de órganos particulares a menudo se agrupan como pruebas de la función del órgano. Tales pruebas agrupadas incluyen pruebas de función renal, hepática y tiroidea.

Pruebas de la función renal

Un análisis de orina completo incluye la evaluación de las características físicas y químicas de la orina. Las características físicas que se evaluarán incluyen el volumen de la orina (esto requiere una muestra de orina cronometrada, generalmente de 24 horas), el olor, el color, la apariencia (clara o turbia), la gravedad específica y el pH. Las proteínas, la glucosa, la sangre, los cuerpos cetónicos, las sales biliares y los pigmentos biliares son componentes anormales de la orina que aparecen en diferentes enfermedades.

La urea y la creatinina se excretan en la orina; sus concentraciones séricas pueden usarse como marcadores de la función renal porque la concentración sérica aumenta a medida que la función renal se deteriora. La creatinina es un mejor marcador de la función renal que la urea porque su concentración en la sangre no se ve significativamente afectada por factores no renales, por lo que es un indicador específico de la función renal; varios factores afectan la concentración de la urea en la sangre.

Normalmente, menos de 150 mg de proteína y menos de 30 mg de albúmina se excretan en la orina cada 24 horas. Esto está por debajo del límite de detección mediante pruebas de rutina. La presencia de proteína en exceso se conoce como **proteinuria** y es un signo de enfermedad renal. La causa más común de proteinuria es la pérdida de la integridad de la membrana basal glomerular (proteinuria glomerular), como se ve en el síndrome nefrótico y la nefropatía diabética. La principal proteína que se encuentra en la proteinuria glomerular es la albúmina. La **microalbuminuria** se define como la presencia de 30 a 300 mg de albúmina en una muestra de orina de 24 horas. Es un marcador temprano de daño renal en la diabetes mellitus.

Aunque la creatinina sérica es un marcador de la función renal, sólo se observa un aumento significativo en la concentración sanguínea cuando se produce un descenso de 50% en la tasa de filtración glomerular (GFR, *glomerular filtration rate*). La medición de la creatinina sérica es por tanto una prueba con poca sensibilidad. La medición del **aclaramiento de la creatinina** proporciona una estimación de la GFR, por lo que se puede utilizar para detectar las etapas iniciales de la insuficiencia renal. El aclaramiento es el volumen de plasma desde el cual un compuesto se elimina completamente por el riñón en la unidad de tiempo. Se calcula con la fórmula:

$$\text{Aclaramiento (mL/min)} = (U \times V)/P$$

donde U es la concentración del analito medido en una muestra cronometrada de orina (generalmente de 24 horas); P es la concentración en el plasma del analito; y V es el volumen de orina producido por minuto (calculado al dividir el volumen de orina recolectado durante 24 horas por [24 × 60]).

Un compuesto que es útil para la medición del aclaramiento renal tiene una concentración sanguínea bastante constante, se excreta sólo en la orina, se filtra libremente en el glomérulo y no es reabsorbido ni secretado por los túbulos renales. Aunque el aclaramiento de la creatinina se mide comúnmente, sobreestima la GFR porque es secretada por los túbulos renales en una pequeña medida. El aclaramiento de la inulina satisface todos los criterios esenciales para que un compuesto se use en las pruebas de eliminación. Sin embargo, a diferencia de la creatina, la inulina es un compuesto exógeno que se debe infundir por vía intravenosa a una velocidad constante.

Pruebas de función hepática

Las pruebas de función hepática (LFTs, *liver function tests*) son un grupo de pruebas que ayudan en el diagnóstico, la evaluación del pronóstico y el control de la terapia de la enfermedad hepática. Cada prueba evalúa un aspecto específico de la función hepática. Un incremento en la **bilirrubina** sérica ocurre debido a muchas causas y produce **ictericia**. En la obstrucción del conducto biliar (ictericia obstructiva), la bilirrubina principalmente conjugada aumenta. En la enfermedad hepatocelular, tanto la bilirrubina conjugada como no conjugada son elevadas, lo que refleja la incapacidad del hígado para absorber, conjugar y excretar la bilirrubina en la bilis (capítulo 31). Los niveles séricos totales de proteína y albúmina son bajos en las enfermedades hepáticas crónicas, como la cirrosis. El tiempo de protrombina (véase capítulo 55) puede prolongarse en los trastornos agudos del hígado debido a la alteración de la síntesis de los factores de coagulación.

Las actividades en el suero de la alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST) (véase el capítulo 28) se elevan significativamente varios días antes del inicio de la ictericia en la hepatitis viral aguda. Se considera que la ALT es más específica para la enfermedad hepática que la AST, porque la AST está elevada en los casos de lesión del músculo cardiaco o esquelético, mientras que la ALT no lo está. La actividad de la fosfatasa alcalina sérica es elevada en la ictericia obstructiva. También se observa una alta actividad de la fosfatasa alcalina sérica en la enfermedad ósea.

Pruebas de la función tiroidea

La glándula tiroides secreta las hormonas tiroideas: tiroxina o tetrayodotironina (T4) y triyodotironina (T3). Las enfermedades asociadas con la síntesis aumentada o disminuida de las hormonas tiroideas (hipertiroidismo e hipotiroidismo, respectivamente) ocurren comúnmente. El diagnóstico clínico de un trastorno tiroideo se confirma midiendo la hormona tiroidea estimulante del suero (tirotropina, TSH) y la tiroxina y la triyodotironina libres. La concentración de tiroxina sérica total puede verse afectada por los cambios en la concentración de la globulina unida a la tiroides en ausencia de la enfermedad tiroidea. La tiroxina total rara vez se mide hoy en día, ya que están disponibles los ensayos para medir la tiroxina libre.

Pruebas de función suprarrenal

El diagnóstico clínico de hiperfunción suprarrenal (síndrome de Cushing) o hipofunción (enfermedad de Addison) se confirma mediante pruebas de función suprarrenal. La secreción de cortisol de la glándula suprarrenal muestra variación diurna; el cortisol sérico es más intenso durante las primeras horas de la mañana y más bajo alrededor de la medianoche. La pérdida de esta variación diurna es uno de los primeros signos de la hiperfunción adversa. La medición del cortisol sérico en muestras de sangre extraídas a la medianoche y a las 8 am, es por tanto, útil como prueba. El diagnóstico de la hiperfunción suprarrenal se confirma mediante la demostración del fracaso de la supresión de la concentración del cortisol temprano en la mañana, seguido de la administración de 1 mg de dexametasona (un potente glucocorticoide sintético) a la medianoche; esta es la **prueba de supresión de la dexametasona.**

Marcadores de riesgo cardiovascular e infarto de miocardio

Como se discutió en el capítulo 25, el colesterol total en el plasma y, especialmente, la proporción de LDL: colesterol HDL proporciona un índice del riesgo a desarrollar aterosclerosis. Las lipoproteínas del plasma fueron originalmente separadas por centrifugación, de ahí su clasificación por la densidad. Los métodos posteriores involucraron la separación por electroforesis. Hoy se mide el colesterol plasmático total, luego se precipitan las lipoproteínas que contienen apoproteína B (véase el cuadro 25-1) usando un catión divalente, permitiendo la medición del colesterol asociado con la lipoproteína de alta densidad (HDL, *high-density lipoprotein*).

Un electrocardiograma puede no mostrar siempre los cambios típicos después de un infarto de miocardio. En tal situación, la elevación en los niveles séricos de troponina cardiaca o la isoenzima creatina quinasa MB proporciona la confirmación de la aparición de un infarto de miocardio, ya que ambas proteínas son específicas del músculo cardiaco.

RESUMEN

- Las pruebas de laboratorio pueden proporcionar información útil para el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades, y sobre el metabolismo normal y la patología de la enfermedad.
- El rango de referencia de un analito es ± 2 × desviaciones estándar alrededor del valor medio para el grupo de población considerado. Los valores fuera de este rango de referencia sugieren una anomalía que merece mayor investigación.
- La precisión de un método analítico es una medida de su reproducibilidad; la exactitud de un método es una medida de qué tan cerca está el resultado del valor verdadero.
- La sensibilidad de un método analítico es una medida de la cantidad mínima del analito que se puede detectar. La especificidad es la medida en que otros compuestos presentes en la muestra pueden dar un resultado falso positivo.
- La sensibilidad de una prueba se refiere al porcentaje de pacientes con la enfermedad que dará un resultado positivo. La especificidad de una prueba es el porcentaje de pacientes sin la enfermedad que dará un resultado negativo.
- Las muestras para el análisis generalmente son la sangre y la orina, aunque también se puede usar saliva, heces y CSF. Las muestras de sangre se pueden tomar en tubos que contienen un anticoagulante (para muestras de plasma) o sin el anticoagulante (para muestras de suero).
- Muchas pruebas de laboratorio se basan en la producción de un producto coloreado o fluorescente que se puede medir mediante espectrofotometría de absorción o fluorimetría.
- Muchos compuestos se pueden medir mediante cromatografía líquida de alta presión, a veces junto con espectrometría de masas. La medición de una gran cantidad de analitos en una muestra es la base de la metabolómica y de la metabonómica, que es el efecto de una enfermedad, medicamento u otro tratamiento sobre el metabolismo.
- Las enzimas pueden usarse para proporcionar métodos de ensayo sensibles y específicos para los analitos. En este caso, debe haber un exceso de enzima en la muestra, de modo que el factor limitante sea la concentración del analito en la muestra.
- Muchas enzimas se liberan en el torrente sanguíneo a partir de las células que mueren en la enfermedad, y su medición puede proporcionar información útil para el diagnóstico y el pronóstico. Para determinar la actividad de una enzima en una muestra, debe haber un exceso de sustrato, por lo que el factor limitante es la cantidad de enzima presente.
- Muchos analitos (y especialmente hormonas) se miden mediante ensayos de unión competitiva, utilizando una proteína de unión de origen natural o un antisuero o anticuerpo monoclonal para unir al ligando. Se usan cantidades traza de ligando radiactivo de alta actividad específica, o ligando marcado con fluorescencia o la proteína de unión.

REFERENCIAS

Lab Tests Online: www.labtestsonline.org (un sitio web completo proporcionado por la Asociación Estadounidense de Químicos Clínicos que proporciona información precisa sobre muchas pruebas de laboratorio).

MedlinePlus: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/encyclopedia.html (la A.D.A.M. Enciclopedia Medica incluye más de 4 000 artículos sobre enfermedades, análisis de laboratorio y otros asuntos).

Preguntas del examen

Sección IX. Temas especiales (A)

1. ¿Cuál de los siguientes compuestos se elevará en el torrente sanguíneo aproximadamente de 1 a 2 horas después de comer una comida rica en grasas?
   A. Quilomicrones.
   B. Lipoproteína de alta densidad.
   C. Cuerpos de cetona.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Lipoproteína de muy baja densidad.
2. ¿Cuál de los siguientes compuestos se elevará en el torrente sanguíneo alrededor de 4 a 5 horas después de comer una comida rica en grasas?
   A. Quilomicrones.
   B. Lipoproteína de alta densidad.
   C. Cuerpos de cetona.
   D. Ácidos grasos no esterificados.
   E. Lipoproteína de muy baja densidad.
3. ¿Cuál de las siguientes opciones es la mejor definición del índice glucémico?
   A. El aumento en la concentración de glucagón en la sangre después de consumir el alimento en comparación con la que se obtiene después de una cantidad equivalente de pan blanco.
   B. El aumento en la concentración sanguínea de glucosa después de consumir el alimento.
   C. El aumento en la concentración de glucosa en la sangre después de consumir el alimento en comparación con la que se obtiene después de una cantidad equivalente de pan blanco.
   D. El aumento en la concentración sanguínea de insulina después de consumir el alimento.
   E. El aumento en la concentración de insulina en la sangre después de consumir el alimento en comparación con la que se obtiene después de una cantidad equivalente de pan blanco.
4. ¿Cuál de los siguientes tendrá el índice glucémico más bajo?
   A. Una manzana al horno.
   B. Una papa al horno.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.
5. ¿Cuál de los siguientes tendrá el índice glucémico más alto?
   A. Una manzana al horno.
   B. Una papa al horno.
   C. Una manzana cruda.
   D. Una papa cruda.
   E. Jugo de manzana.
6. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los quilomicrones es correcta?
   A. Los quilomicrones se producen dentro de las células intestinales y se secretan en la linfa, donde adquieren las apolipoproteínas B y C.
   B. El núcleo de los quilomicrones contiene triacilglicerol y fosfolípidos.
   C. La lipasa sensible a la hormona enzimática actúa sobre los quilomicrones para liberar ácidos grasos del triacilglicerol cuando ellos se unen a la superficie de las células endoteliales en los capilares sanguíneos.
   D. Los restos de los quilomicrones difieren de los quilomicrones en que son más pequeños y contienen una proporción menor de triacilglicerol.
   E. Los quilomicrones son absorbidos por el hígado.
7. Los esteroles y estanoles vegetales inhiben la absorción del colesterol del tracto gastrointestinal. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor cómo actúan?
   A. Se incorporan a los quilomicrones en lugar de al colesterol.
   B. Compiten con el colesterol por la esterificación en el lumen intestinal, de modo que se esterifica menos el colesterol.
   C. Compiten con el colesterol por la esterificación en la célula de la mucosa, y el colesterol no esterificado se transporta activamente fuera de la célula hacia el lumen intestinal.
   D. Compiten con el colesterol por la esterificación en la célula de la mucosa, y el colesterol no esterificado no se incorpora a los quilomicrones.
   E. Desplazan al colesterol de las micelas de los lípidos, por lo que no está disponible para la absorción.
8. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones sobre el metabolismo energético es CORRECTA?
   A. El tejido adiposo no contribuye a la tasa metabólica basal (BMR, *basal metabolic rate*).
   B. El nivel de actividad física (PAL, *physical activity level*) es la suma de las relaciones de la actividad física para diferentes actividades a lo largo del día, multiplicado por el tiempo empleado en cada actividad, expresado como un múltiplo de la BMR.
   C. La relación de actividad física (PAR, *physical activity ratio*) es el costo de energía de la actividad física durante el día.
   D. La tasa metabólica de reposo (RMR, *resting metabolic rate*) es el gasto de energía del cuerpo cuando está dormido.
   E. El costo de energía de la actividad física puede determinarse midiendo la producción del cociente respiratorio (RQ, *respiratory quotient*) durante la actividad.
9. Un paciente con cáncer colorrectal metastásico ha perdido 6 kg de peso corporal durante el último mes. ¿Cuál de las siguientes es la mejor explicación para su pérdida de peso?
   A. Debido al tumor el paciente está edematoso.
   B. La quimioterapia ha causado náuseas y pérdida del apetito.
   C. Su tasa metabólica basal ha disminuido como resultado del catabolismo proteico causado por el factor de necrosis tumoral y otras citoquinas.
   D. Su tasa metabólica basal (TMB, *basal metabolic rate*) se ha incrementado como resultado de la glucólisis anaeróbica en el tumor y el costo energético de la gluconeogénesis a partir del lactato resultante en su hígado.
   E. El tumor tiene un requerimiento energético muy alto por la proliferación celular.
10. Un niño de 5 años que llega a un centro de refugiados en el este de África tiene retraso en el crecimiento (sólo 89% de la altura prevista para la edad) pero no es edematoso. ¿Lo considerarías como:
    A. Sufrimiento por kwashiorkor.
    B. Sufrimiento por kwashiorkor marásmico.
    C. Sufrimiento por marasmo.
    D. Sufrimiento por desnutrición.
    E. Subalimentado, pero no se considera clínicamente desnutrido.
11. Un niño de 5 años que llega a un centro de refugiados en África oriental tiene retraso en el crecimiento (sólo 55% de la altura prevista para la edad), pero no es edematoso. ¿Lo considerarías como:
    A. Sufrimiento por kwashiorkor.
    B. Sufrimiento por kwashiorkor marásmico.
    C. Sufrimiento por marasmo.
    D. Sufrimiento por desnutrición.
    E. Subalimentado, pero no se considera clínicamente desnutrido.

12. ¿Cuál de las siguientes opciones es la definición del balance de nitrógeno?
    A. Ingesta de proteínas como un porcentaje de la ingesta total de energía.
    B. La diferencia entre la ingesta de proteínas y la excreción de compuestos nitrogenados.
    C. La relación de la excreción de compuestos nitrogenados/la ingesta de proteínas.
    D. La relación de la ingesta de proteína/la excreción de los compuestos nitrogenados.
    E. La suma de la ingesta de proteínas y la excreción de los compuestos nitrogenados.
13. ¿Cuál de las siguientes declaraciones sobre el balance del nitrógeno es correcta?
    A. Si la ingesta de proteína es mayor que los requerimientos, siempre habrá un balance de nitrógeno positivo.
    B. En el equilibrio del nitrógeno, la excreción de metabolitos nitrogenados es mayor que la ingesta en la dieta de compuestos nitrogenados.
    C. En el balance de nitrógeno positivo, la excreción de metabolitos nitrogenados es menor que la ingesta en la dieta de compuestos nitrogenados.
    D. El balance de nitrógeno es la relación entre la ingesta de compuestos nitrogenados/salida de metabolitos nitrogenados del cuerpo.
    E. El balance positivo de nitrógeno significa que hay una pérdida neta de proteína en el cuerpo.
14. En una serie de experimentos para determinar los requerimientos de los aminoácidos, voluntarios adultos jóvenes y sanos fueron alimentados con mezclas de aminoácidos como su única fuente de proteína. ¿Cuál de las siguientes mezclas daría lugar a un balance de nitrógeno negativo (suponiendo que todos los demás aminoácidos se proporcionan en cantidades adecuadas)?
    A. Una que carece de alanina, glicina y tirosina.
    B. Una que carece de arginina, glicina y cisteína.
    C. Una que carece de asparagina, glutamina y cisteína.
    D. Una que carece de lisina, glicina y tirosina.
    E. Una que carece de prolina, alanina y glutamato.
15. ¿Cuál de las siguientes vitaminas proporciona el cofactor para las reacciones de reducción en la síntesis de ácidos grasos?
    A. Folato.
    B. Niacina.
    C. Riboflavina.
    D. Tiamina.
    E. Vitamina B_6.
16. ¿La deficiencia de cuál de estas vitaminas es una de las principales causas de ceguera en el mundo?
    A. Vitamina A.
    B. Vitamina B_{12}.
    C. Vitamina B_6.
    D. Vitamina D.
    E. Vitamina K.
17. ¿La deficiencia de cuál de estas vitaminas puede conducir a la anemia megaloblástica?
    A. Vitamina B_6.
    B. Vitamina B_{12}.
    C. Vitamina D.
    D. Vitamina E.
    E. Vitamina K.
18. ¿Cuál de los siguientes criterios de adecuación vitamínica se puede definir como: "No hay signos de deficiencia en condiciones normales, pero cualquier trauma o estrés revela el estado precario de las reservas corporales y puede precipitar signos clínicos"?
    A. Respuesta anormal para una carga metabólica.
    B. Enfermedad de deficiencia clínica.
    C. Deficiencia encubierta.
    D. Incompleta saturación de las reservas corporales.
    E. Deficiencia subclínica.
19. ¿Cuál de los siguientes criterios de adecuación de las vitaminas se puede definir como anormalidades metabólicas bajo condiciones normales?
    A. Respuesta anormal a una carga metabólica.
    B. Enfermedad de deficiencia clínica.
    C. Deficiencia encubierta.
    D. Saturación incompleta de las reservas corporales.
    E. Deficiencia subclínica.
20. ¿Cuál de las siguientes es la mejor definición de la ingesta de nutrientes de referencia (RNI, *reference nutrient intake*) o la cantidad diaria recomendada (RDA, *recommended daily amount*) de una vitamina o un mineral?
    A. Una desviación estándar por encima del requerimiento promedio del grupo de población bajo consideración.
    B. Una desviación estándar por debajo del requerimiento promedio del grupo de población bajo consideración.
    C. El requerimiento promedio del grupo de población bajo consideración.
    D. Dos desviaciones estándar por encima del requerimiento promedio del grupo de población considerado.
    E. Dos desviaciones estándar por debajo del requerimiento promedio del grupo de población considerado.
21. ¿Qué porcentaje de la población habrá cumplido con su requerimiento de una vitamina o un mineral si su ingesta es igual a la RNI o RDA?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.
    D. 95%.
    E. 97.5%.
22. ¿Qué porcentaje de la población habrá cumplido con su requerimiento de una vitamina o un mineral si su ingesta es igual a la menor ingesta de nutrientes de referencia (LRNI, *lower reference nutrient intake*)?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.
    D. 95%.
    E. 97.5%.
23. ¿Qué porcentaje de la población habrá cumplido con su requerimiento de una vitamina o un mineral si su ingesta es igual al requerimiento promedio?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.
    D. 95%.
    E. 97.5%.
24. Para una persona cuya ingesta de una vitamina o un mineral es igual al requerimiento promedio, ¿cuál es la probabilidad de que este nivel de ingesta sea adecuado para cumplir con su requerimiento individual?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.

D. 95%.
E. 97.5%.

25. Para una persona cuya ingesta de una vitamina o un mineral es igual al LRNI, ¿cuál es la probabilidad de que este nivel de ingesta sea adecuado para satisfacer su requerimiento individual?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.
    D. 95%.
    E. 97.5%.
26. Para una persona cuya ingesta de una vitamina o un mineral es igual a la RNI, ¿cuál es la probabilidad de que este nivel de ingesta sea adecuado para satisfacer su requerimiento individual?
    A. 2.5%.
    B. 5%.
    C. 50%.
    D. 95%.
    E. 97.5%.
27. ¿Cuál de las siguientes variantes NO constituye una fuente de radicales de oxígeno?
    A. Acción de la superóxido dismutasa.
    B. Activación de macrófagos.
    C. Reacciones no enzimáticas de iones de metales de transición.
    D. Reacción de β-caroteno con oxígeno.
    E. Radiación ultravioleta.
28. ¿Cuál de las siguientes opciones protege contra el daño del radical de oxígeno a los tejidos?
    A. Acción de la superóxido dismutasa.
    B. Activación de macrófagos.
    C. Reacciones no enzimáticas de iones de metales de transición.
    D. Reacción de β-caroteno con oxígeno.
    E. Radiación ultravioleta.
29. ¿Cuál de las siguientes opciones NO es el resultado de la acción del radical de oxígeno?
    A. Activación de macrófagos.
    B. Modificación de bases en el DNA.
    C. Oxidación de aminoácidos en apoproteínas de LDL.
    D. Peroxidación de ácidos grasos insaturados en las membranas.
    E. Rotura de los filamentos en el ADN.
30. ¿Cuál de los siguientes tipos de daño por el radical de oxígeno puede conducir al desarrollo de la enfermedad tiroidea autoinmune?
    A. Modificación química de las bases del DNA en las células somáticas.
    B. Modificación química del DNA en las células germinales.
    C. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas de la membrana celular.
    D. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas mitocondriales.
    E. Oxidación de los ácidos grasos insaturados en las lipoproteínas del plasma.
31. ¿Cuál de los siguientes tipos de daño por radicales de oxígeno puede conducir al desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria?
    A. Modificación química de las bases del DNA en las células somáticas.
    B. Modificación química del DNA en las células germinales.
    C. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas de la membrana celular.
    D. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas mitocondriales.
    E. Oxidación de los ácidos grasos insaturados en las lipoproteínas del plasma.
32. ¿Cuál de los siguientes tipos de daño por el radical de oxígeno puede conducir al desarrollo del cáncer?
    A. Modificación química de las bases de DNA en las células somáticas.
    B. Modificación química del DNA en las células germinales.
    C. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas de la membrana celular.
    D. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas mitocondriales.
    E. Oxidación de los ácidos grasos insaturados en las lipoproteínas del plasma.
33. ¿Cuál de los siguientes tipos de daño por el radical de oxígeno puede conducir al desarrollo de mutaciones hereditarias?
    A. Modificación química de las bases de DNA en las células somáticas.
    B. Modificación química del DNA en las células germinales.
    C. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas de la membrana celular.
    D. Oxidación de los aminoácidos en las proteínas mitocondriales.
    E. Oxidación de los ácidos grasos insaturados en las lipoproteínas del plasma.
34. ¿Cuál de las siguientes opciones explica mejor la acción antioxidante de la vitamina E?
    A. Forma un radical estable que puede reducirse a vitamina E activa por reacción con la vitamina C.
    B. Es un radical, por lo que cuando reacciona con otro radical, se forma un producto no radical.
    C. Se convierte en un radical estable por reacción con la vitamina C.
    D. Es soluble en lípidos y puede reaccionar con radicales libres en el plasma sanguíneo como resultado de la formación del óxido nítrico (NO) por el endotelio vascular.
    E. La vitamina E oxidada se puede reducir nuevamente a vitamina E activa por reacción con el glutatión y la glutatión peroxidasa.
35. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor el glicoma?
    A. El DNA que codifica las glicosiltransferasas.
    B. El complemento completo de todos los carbohidratos en el cuerpo.
    C. El complemento completo de los azúcares libres en las células y los tejidos.
    D. El complemento completo de las glicoproteínas y los glicolípidos en el cuerpo.
    E. El complemento completo de las glicosiltransferasas en el cuerpo.
36. ¿Cuál de los siguientes métodos NO puede utilizarse para determinar las estructuras de las glucoproteínas?
    A. Micromatrices de carbohidratos.
    B. Degradación usando endo y exoglucosidasas.
    C. Análisis del genoma.
    D. Espectrometría de masas.
    E. Cromatografía de lectina de sefarosa.
37. ¿Cuál de las siguientes variantes NO es una función de las glucoproteínas?
    A. Anclaje de proteínas en la superficie de la célula.
    B. Proteger las proteínas del plasma contra el aclaramiento por el hígado.
    C. Proporcionar un sistema de transporte del folato a las células.
    D. Proporcionar un sistema de transporte para la absorción de las lipoproteínas de baja densidad en el hígado.
    E. Proporcionar señales de reconocimiento en la superficie celular.

38. ¿Cuál de los siguientes NO es un componente de las glucoproteínas?
    A. Fucosa.
    B. Galactosa.
    C. Glucosa.
    D. Manosa.
    E. Sacarosa.
39. ¿Cuál de los siguientes se usa como donador de azúcar en la síntesis del pentasacárido común de las glucoproteínas N-ligadas?
    A. Ácido CMP-N-acetilneuramínico.
    B. Dolicol pirofosfato N-acetilglucosamina.
    C. Dolicol pirofosfato-manosa.
    D. GDP-fucosa.
    E. UDP-N-acetilglucosamina.
40. ¿Cuál de los siguientes NO se usa como donador de azúcar en la síntesis de las glucoproteínas ligadas a N en el retículo endoplásmico?
    A. Dolicol pirofosfato fructosa.
    B. Dolicol pirofosfato galactosa.
    C. Dolicol pirofosfato manosa.
    D. Dolicol pirofosfato N-acetilglucosamina.
    E. Ácido N-acetilneuraminico dolicol pirofosfato.
41. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor la unión del pentapéptido común a la apoproteína en la síntesis de una glucoproteína ligada a N?
    A. Glicación directa del aminoácido amino terminal del péptido.
    B. Desplazamiento de la región amino terminal del péptido en una reacción de transamidación.
    C. Desplazamiento de la región amino terminal del péptido en una reacción de transaminación.
    D. Desplazamiento de la región carboxi terminal del péptido en una reacción de transamidación.
    E. Desplazamiento de la región carboxi terminal del péptido en una reacción de transaminación.
42. ¿Cuál de las siguientes NO es una glucoproteína?
    A. Colágeno.
    B. Inmunoglobulina G.
    C. Albúmina sérica.
    D. Hormona estimulante de la tiroides.
    E. Transferrina.
43. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es incorrecta?
    A. La calnexina asegura el plegamiento correcto de las glucoproteínas en el retículo endoplásmico.
    B. El oligosacárido de pirofosfato de dolicol absorbe todos los azúcares que se encuentran en las glucoproteínas ligadas a N.
    C. Las mucinas contienen predominantemente glucanos ligados a O.
    D. El ácido N-acetilneuramínico se encuentra comúnmente en los extremos de las cadenas de azúcares ligadas a N de las glucoproteínas.
    E. Las cadenas de azúcares ligadas a O de las glucoproteínas se forman mediante la adición gradual de azúcares a partir de nucleótidos de azúcar.
44. ¿Cuál de las siguientes NO es una actividad del citocromo P450?
    A. Activación de la vitamina D.
    B. Hidroxilación de precursores de las hormonas esteroides.
    C. Hidroxilación de xenobióticos.
    D. Hidroxilación del ácido retinoico.
    E. Metilación de xenobióticos.
45. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor la reacción de un citocromo P450?
    A. $RH + O_2 + NADP^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADPH$.
    B. $RH + O_2 + NAD^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADH$.
    C. $RH + O_2 + NADPH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADP^+$.
    D. $RH + O_2 + NADPH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O_2 + NADP^+$.
    E. $RH + O_2 + NADH \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NAD^+$.
46. ¿Cuál de los siguientes es el componente lipídico preferido del sistema del citocromo P450?
    A. Fosfato de Dolicol.
    B. Fosfatidilcolina.
    C. Fosfatidiletanolamina.
    D. Fosfatidilinositol.
    E. Fosfatidilserina.
47. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor las interacciones medicamentosas entre el fenobarbital y la warfarina?
    A. El fenobarbital induce CYP2C9, y esto ocasiona una disminución del catabolismo de la warfarina.
    B. El fenobarbital induce CYP2C9, y esto da como resultado un catabolismo aumentado de la warfarina.
    C. El fenobarbital reprime CYP2C9, y esto da como resultado un catabolismo aumentado de la warfarina.
    D. La warfarina induce CYP2C9, y esto da como resultado una disminución del catabolismo del fenobarbital.
    E. La warfarina induce CYP2C9, y esto da como resultado un catabolismo aumentado del fenobarbital.
48. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor los efectos de los polimorfismos del CYP2A6?
    A. Las personas con el alelo activo tienen menos probabilidades de convertirse en fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo inactiva la nicotina a cotinina.
    B. Las personas con el alelo inactivo (nulo) son menos propensas a convertirse en fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo inactiva la nicotina a la cotinina.
    C. Las personas con el alelo inactivo (nulo) son menos propensas a convertirse en fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo activa la nicotina a cotinina.
    D. Las personas con el alelo inactivo (nulo) son más propensas a convertirse en fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo inactiva la nicotina a cotinina.
    E. Las personas con el alelo inactivo (nulo) son más propensas a convertirse en fumadores dependientes del tabaco porque este citocromo activa la nicotina a cotinina.
49. ¿Cuál de las siguientes NO es una función del glutatión?
    A. Coenzima para la reducción del peróxido de hidrógeno.
    B. Conjugación de la bilirrubina.
    C. Conjugación de algunos productos del metabolismo de fase I de los xenobióticos.
    D. Transporte de los aminoácidos a través de las membranas celulares.
    E. Transporte de bilirrubina en el torrente sanguíneo.
50. ¿Cuál de las siguientes opciones describe mejor el rango de referencia para una prueba de laboratorio?
    A. Un rango ± 1 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    B. Un rango ± 1.5 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    C. Un rango ± 2 × desviación estándar alrededor del valor promedio.
    D. Un rango ± 2.5 × desviación estándar alrededor del valor medio.
    E. Un rango ± 3 × desviación estándar alrededor del valor medio.
51. ¿Cuál de las siguientes declaraciones sobre pruebas de laboratorio es incorrecta?
    A. El valor predictivo de una prueba es la medida en que predecirá correctamente si una persona tiene o no la enfermedad.

B. La sensibilidad y especificidad de una prueba están inversamente relacionadas.
C. La sensibilidad de una prueba es una medida de cuántas personas con la enfermedad darán un resultado positivo.
D. La especificidad de una prueba es una medida de cuántas personas con la enfermedad darán un resultado positivo.
E. La especificidad de una prueba es una medida de cuántas personas sin la enfermedad darán un resultado negativo.

52. ¿Cuál de las siguientes opciones es correcta cuando se usa una enzima para medir un analito en una muestra de sangre?
A. La concentración de sustrato debe ser aproximadamente 20 veces la K_m de la enzima.
B. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima.
C. La concentración del sustrato debe ser igual o menor que la K_m de la enzima.
D. La concentración del sustrato en el ensayo no es importante.
E. La concentración del sustrato debe ser aproximadamente 1/20 de la K_m de la enzima.

53. ¿Cuál de las siguientes opciones es correcta cuando se mide una enzima en una muestra de sangre?
A. La concentración del sustrato debe ser aproximadamente 20 veces la K_m de la enzima.
B. La concentración de sustrato debe ser igual a la K_m de la enzima.
C. La concentración del sustrato debe ser igual o menor que la K_m de la enzima.
D. La concentración del sustrato en el ensayo no es importante.
E. La concentración del sustrato debe ser aproximadamente 1/20 de la K_m de la enzima.

54. ¿Cuál de las siguientes opciones explica mejor el uso de los ensayos de activación enzimática para evaluar el estado nutricional de las vitaminas?
A. Agregar el cofactor derivado de la vitamina a la incubación convierte la apoenzima previamente inactiva en holoenzima activa.
B. Agregar el cofactor derivado de la vitamina a la incubación convierte holoenzima previamente inactiva en apoenzima activa.
C. Agregar el cofactor derivado de la vitamina a la incubación convierte la holoenzima previamente activa en una apoenzima inactiva.
D. Agregar el cofactor derivado de la vitamina a la incubación convierte la apoenzima previamente activa en holoenzima inactiva.
E. Agregar el cofactor derivado de la vitamina a la incubación conduce a una reducción en la actividad de la enzima.

55. ¿Cuál de los siguientes se usaría para preparar el suero de una muestra de sangre?
A. Un tubo simple.
B. Un tubo que contiene citrato.
C. Un tubo que contiene EDTA.
D. Un tubo que contiene oxalato.
E. Un tubo evacuado para excluir el oxígeno.

56. ¿Cuál de los siguientes sería utilizado para tomar una muestra de sangre para el análisis de gases en la sangre?
A. Un tubo simple.
B. Un tubo que contiene citrato.
C. Un tubo que contiene EDTA.
D. Un tubo que contiene oxalato.
E. Un tubo evacuado para excluir el oxígeno.

57. ¿Cuál de las siguientes opciones explica mejor la diferencia entre el aclaramiento de la creatinina y el aclaramiento de la inulina como pruebas de la función renal?
A. El aclaramiento de creatinina es más alto que el aclaramiento de la inulina porque la creatinina se secreta activamente en los túbulos renales distales.
B. El aclaramiento de la creatinina es más alto que el aclaramiento de la inulina porque la inulina se secreta activamente en los túbulos renales proximales.
C. El aclaramiento de la creatinina es más alto que el aclaramiento de la inulina porque la inulina se secreta activamente en los túbulos renales distales.
D. El aclaramiento de la creatinina es menor que el aclaramiento de la inulina porque la creatinina se secreta activamente en los túbulos renales distales.
E. El aclaramiento de la creatinina es menor que el aclaramiento de la inulina porque la inulina no está completamente filtrada en el glomérulo.

SECCIÓN X

Temas especiales (B)

CAPÍTULO 49

Tráfico intracelular y clasificación de las proteínas

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Indicar que muchas proteínas son direccionadas por secuencias de señales a sus destinos correctos, y que el aparato de Golgi desempeña un papel importante en la clasificación de las proteínas.
- Reconocer cuáles señales especializadas están involucradas en la clasificación de proteínas a las mitocondrias, el núcleo y los peroxisomas.
- Explicar que los péptidos de señal N-terminal desempeñan un papel clave en la dirección de las proteínas recién sintetizadas en el lumen del retículo endoplásmico (ER).
- Explicar cómo las chaperonas evitan el plegamiento defectuoso de otras proteínas, cómo se eliminan las proteínas mal plegadas, y cómo el ER actúa como un compartimiento de control de calidad.
- Explicar el papel de la ubiquitina como molécula clave en la degradación de las proteínas.
- Reconocer el importante papel de las vesículas en el transporte intracelular.
- Indicar que muchas enfermedades son el resultado de mutaciones en los genes que codifican las proteínas involucradas en el transporte intracelular.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas se sintetizan en los polirribosomas, pero realizan funciones variadas en diferentes ubicaciones subcelulares, incluyendo el citosol, organelos específicos, o las membranas. Sin embargo, otras están destinadas a ser exportadas. Por tanto, existe un considerable **tráfico intracelular de proteínas**. Como lo reconoció Blobel en 1970, para permitir que las proteínas alcancen sus ubicaciones correctas, su estructura contiene una señal o secuencia de codificación que las **direcciona** de la manera adecuada. Esto condujo a la identificación de numerosas señales específicas (cuadro 49-1), y también al reconocimiento de que **ciertas enfermedades** son el resultado de mutaciones que afectan estas señales de forma negativa. Este capítulo discutirá la clasificación y el tráfico intracelular de proteínas, y considerará brevemente algunos de los trastornos que se producen cuando ocurren anomalías.

CUADRO 49-1 Secuencias o moléculas que direccionan proteínas a organelos específicos

Secuencia de dirección o compuesto	Organelo direccionado
Péptido de señal N-terminal	ER
Secuencia de KDEL de carboxilo terminal (Lys-Asp-Glu-Leu) en proteínas residentes de ER en vesículas de COPI	Lumen de ER
Secuencias diacídicas (p. ej., Asp-X-Glu) en proteínas de membrana en vesículas de COPII	Membranas de Golgi
Secuencia amino terminal (20-50 residuos)	Matriz mitocondrial
NLS (por ejemplo, Pro_2-Lys_3-Arg-Lys-Val)	Núcleo
PTS (por ejemplo, Ser-Lys-Leu)	Peroxisoma
Manosa 6-fosfato	Lisosoma

Abreviaturas: ER, retículo endoplásmico; NLS, señal de localización nuclear; PTS, secuencia de direccionamiento de matriz peroxisomal.

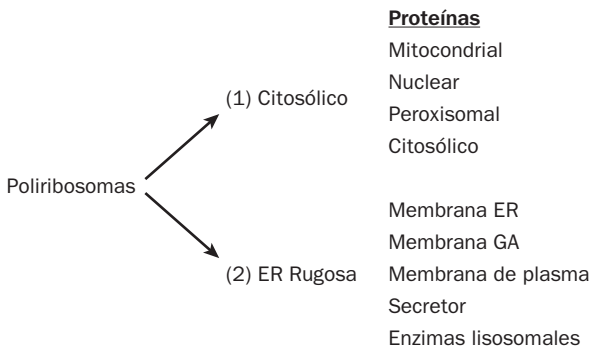


FIGURA 49-1 Las dos ramas de la clasificación de proteínas. Las proteínas se sintetizan en los polirribosomas citosólicos (libres) o en los polirribosomas unidos a la membrana en el ER rugoso. Las proteínas mitocondriales codificadas por genes nucleares se derivan de la ruta citosólica. (ER: retículo endoplásmico, GA: aparato de Golgi).

MUCHAS PROTEÍNAS SON DIRECCIONADAS A SUS DESTINOS CORRECTOS POR SECUENCIAS DE SEÑALES

Las rutas de biosíntesis de las proteínas en las células se pueden considerar como un **gran sistema de clasificación**. Muchas proteínas llevan señales (usualmente secuencias de aminoácidos, pero no siempre) que las dirigen a sus destinos subcelulares específicos; estas señales son un componente fundamental del sistema de clasificación. Por lo general, las secuencias de señales son reconocidas e interactúan con áreas complementarias de otras proteínas, que funcionan como receptores que reconocen las señales.

Una importante decisión de clasificación se hace al principio de la biosíntesis de proteínas, cuando las proteínas específicas se sintetizan en polirribosomas **citosólicos** (libres), o **unidos a la membrana** (capítulo 37). La **hipótesis de la señal** fue propuesta por Blobel y Sabatini en 1971, en parte para explicar la distinción entre los polirribosomas libres y los unidos a la membrana. Propusieron que las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a la membrana contienen un **péptido de señal N-terminal**, lo que hace que se adhieran a las membranas del ER, y facilita la transferencia de proteínas en el lumen del ER. Por otra parte, las proteínas sintetizadas en polirribosomas libres carecen del péptido de señal, y retienen la libre circulación en el citosol. Un aspecto importante de la hipótesis de señal es que todos los ribosomas tienen la misma estructura, y que la distinción entre ribosomas ligados a membrana y ribosomas libres sólo depende de que los primeros transporten proteínas que tienen péptidos de señal. Debido a que muchas proteínas de membrana se sintetizan en polirribosomas unidos a la membrana, la hipótesis de la señal juega un papel importante en los **conceptos de ensamblaje de membrana**. Las regiones ER que contienen polirribosomas adosados se llaman **ER rugosos** (**RER**), y la distinción entre los dos tipos de ribosomas da como resultado dos ramas de la ruta de clasificación de proteínas, denominadas **rama citosólica** y **rama RER** (figura 49-1).

Las proteínas sintetizadas por polirribosomas citosólicos se dirigen a las mitocondrias, los núcleos, y los peroxisomas mediante señales específicas, o permanecen en el citosol si carecen de señal. Cualquier proteína que contenga una secuencia de direccionamiento que se elimina posteriormente se designa como una **preproteína**. En algunos casos, un segundo péptido también se elimina, y en ese caso la proteína original se conoce como **preproproteína** (p. ej., preproalbúmina, ver capítulo 52).

Las proteínas sintetizadas y clasificadas en la **rama RER** (figura 49-1) incluyen muchas destinadas a diversas membranas (p. ej., del ER, aparato de Golgi [GA], membrana plasmática [PM]), y también a las enzimas lisosómicas. Además, las **proteínas para exportar desde la célula vía exocitosis** (secreción) se sintetizan mediante esta ruta. Estas diversas proteínas pueden así residir en las membranas, o el lumen del ER, o seguir la ruta de transporte principal de las proteínas intracelulares al GA. En la vía **secretora o exocitótica**, las proteínas se transportan desde el ER → GA → PM, y luego se liberan en el entorno externo. La secreción puede ser **constitutiva**, lo que significa que el transporte se produce de forma continua o **regulada**, o se conecta y desconecta según sea necesario. Las proteínas destinadas al GA, la PM, y otros sitios, o para la secreción constitutiva, se transportan en **vesículas de transporte** (figura 49-2) (ver también más adelante). Otras proteínas que están sujetas a secreción regulada se transportan en **vesículas secretoras** (figura 49-2). Estas son particularmente prominentes en el páncreas y otras glándulas. El paso de las enzimas a los lisosomas usando la señal de manosa 6-fosfato se describe en el capítulo 46.

El aparato de Golgi está involucrado en la glucosilación y la clasificación de proteínas

El GA juega dos papeles principales en la síntesis de proteínas. En primer lugar, está implicado en el **procesamiento de las cadenas de oligosacáridos** de la membrana y otras glucoproteínas ligadas a N, y también contiene enzimas implicadas en la O-glucosilación (véase el capítulo 46). En segundo lugar, está involucrado en la clasificación de varias proteínas antes de su entrega a los destinos intracelulares apropiados. **El GA consiste en *cis*- (encarando al ER), medial y *trans*-cisternae (membranas apiladas), y la red**

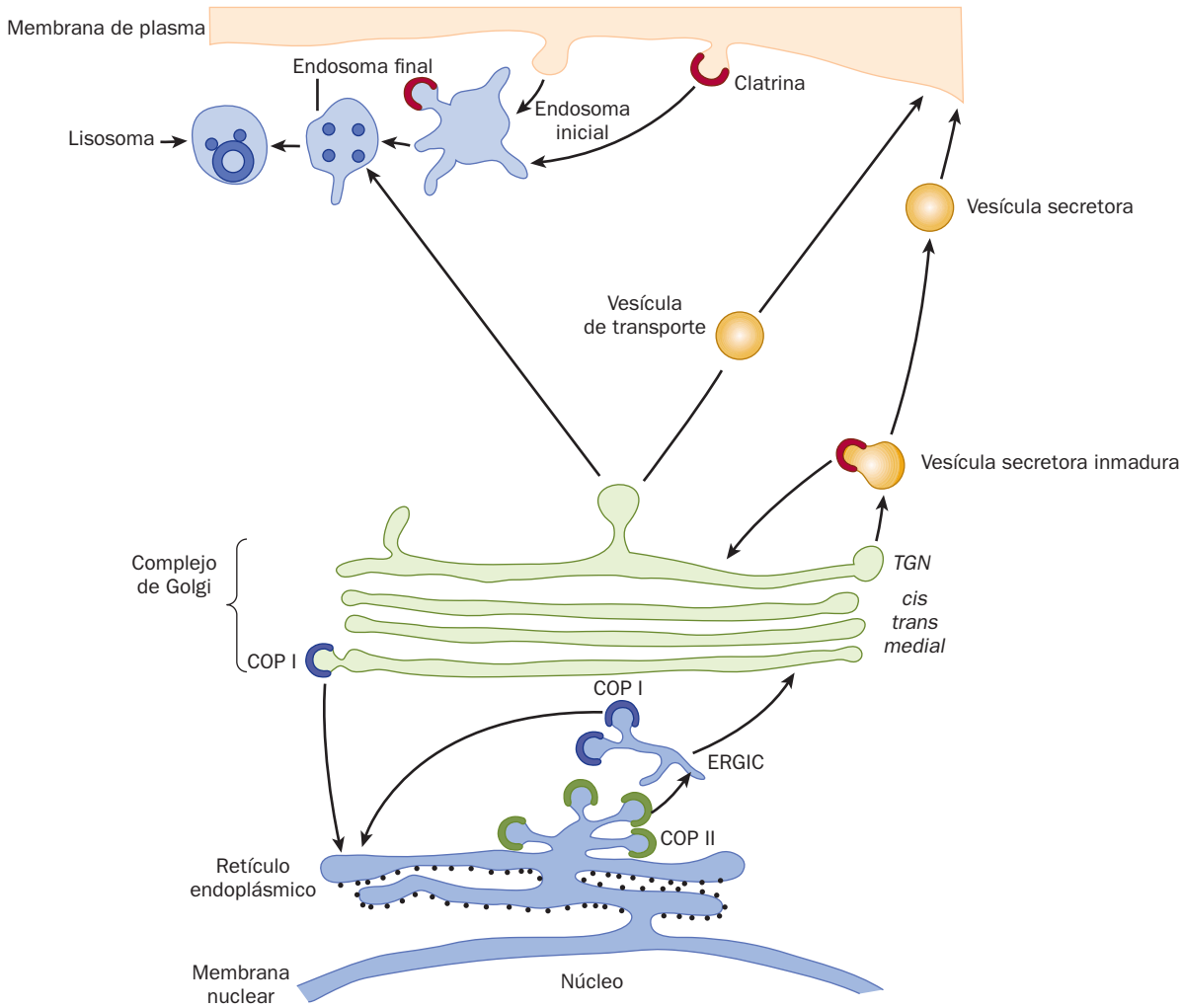


FIGURA 49-2 **La rama ER rugosa de la clasificación de proteínas.** Las proteínas recién sintetizadas se insertan en la membrana ER o lumen de los polirribosomas unidos a la membrana (pequeños círculos negros que recubren la cara citosólica del ER). Las proteínas que se transportan fuera del ER se traladan en vesículas COPII al *cis*-Golgi (transporte anterógrado). Las proteínas se mueven a través del aparato de Golgi (GA) a medida que maduran las cisternae (estructuras semejantes a sacos de membrana). En la red *trans*-Golgi (TGN) –el lado de salida del Golgi– las proteínas se segregan y clasifican. Para la secreción regulada, las proteínas se acumulan en vesículas secretoras, mientras que las proteínas destinadas a la inserción en la membrana plasmática para la secreción constitutiva se transportan a la superficie celular en vesículas de transporte. Las vesículas recubiertas de clatrina están involucradas en la endocitosis, llevando la carga a los endosomas tardíos y a los lisosomas. La manosa 6-fosfato (no se muestra, véase el capítulo 46) actúa como una señal para transportar las enzimas a los lisosomas. Las vesículas COPI transportan la proteína desde el GA hasta el ER (transporte retrógrado) y pueden estar involucradas en algún transporte intra-Golgi. Normalmente, el cargamento pasa a través del compartimiento del complejo intermedio ER-Golgi (ERGIC) al GA. (Cortesía de E Degen).

trans-Golgi (TGN) (figura 49-2). Todas las partes del GA participan en el primer proceso, mientras que la TGN está involucrada, en particular, en el segundo y es muy rica en vesículas.

Las chaperonas son proteínas que estabilizan las proteínas desplegadas o parcialmente plegadas

Las chaperonas moleculares son proteínas que **estabilizan los intermediarios desplegados o parcialmente plegados**, dándoles tiempo a plegarse correctamente, evitando interacciones inapropiadas, y combatiendo así la formación de estructuras no funcionales. La mayoría de las chaperonas exhiben **actividad ATPasa** y se unen al adenosín fosfato ADP y al adenosín trifosfato ATP. Esta actividad es importante por su efecto sobre el plegamiento de proteínas.

El complejo ADP-chaperona a menudo tiene una gran afinidad por la proteína no plegada, que cuando se enlaza estimula el reemplazo del ADP con ATP. A su vez, el complejo ATP-chaperona libera segmentos de la proteína que se han plegado correctamente, y el ciclo que implica la unión de ADP y ATP se repite hasta que se libera la proteína. Las chaperonas son necesarias para direccionar de forma correcta las proteínas a sus ubicaciones subcelulares. En el cuadro 49-2 se enumeran varias propiedades importantes de estas proteínas.

Las **chaperoninas** son la segunda clase principal de chaperonas. Forman complejas **estructuras tipo barril**, en las que una proteína

CUADRO 49-2 Algunas propiedades de las proteínas chaperonas

- Presentes en una amplia gama de especies, desde bacterias hasta humanos
- Muchas son las llamadas proteínas de choque térmico (Hsp)
- Algunas son inducidas por las condiciones que causan el despliegue de proteínas recién sintetizadas (por ejemplo, temperatura elevada y varios productos químicos)
- Se unen a regiones con predominio hidrofóbico de las proteínas desplegadas y evitan su agregación
- Actúan en parte como un mecanismo de control de calidad, o de edición para detectar proteínas mal plegadas o defectuosas
- La mayoría de las chaperonas muestran actividad de ATPasa asociada, con ATP o ADP involucrados en la interacción proteína-acompañante
- Se encuentran en varios compartimientos celulares, como el citosol, las mitocondrias y el lumen del retículo endoplasmático

sin plegar se secuestra lejos de otras proteínas, lo que le da tiempo y condiciones adecuadas para plegarse adecuadamente. La estructura de la chaperonina bacteriana GroEL se ha estudiado en detalle. Es polimérica, tiene dos estructuras anulares, cada una compuesta de siete subunidades idénticas, y donde el ATP está involucrado en su acción. La proteína de choque térmico Hsp60 es el equivalente de la GroEL en las eucariotas.

LA RAMA DE CLASIFICACIÓN CITOSÓLICA DE LA PROTEÍNA DIRIGE LAS PROTEÍNAS A ORGANELOS SUBCELULARES

Las proteínas sintetizadas a través de la rama de selección citosólica contienen una señal de captación que les permite ingresar al organelo subcelular correcto; si están destinadas al citosol, carecen de señal de direccionamiento. Las señales de captación específicas dirigen las proteínas a las mitocondrias, el núcleo, y los peroxisomas (cuadro 49-1). Dado que la síntesis de proteínas se completa antes de que se produzca el transporte, estos procesos se denominan translocación postranslacional.

La mayoría de las proteínas mitocondriales son importadas

Las **mitocondrias** contienen muchas proteínas. Trece polipéptidos (principalmente componentes de membrana de la cadena de transporte de electrones) están codificados por el **genoma mitocondrial** (**mt**), y se sintetizan en ese organelo utilizando su propio sistema de síntesis de proteínas. Sin embargo, la gran mayoría (al menos varios cientos) están codificadas por **genes nucleares**, se sintetizan fuera de las mitocondrias –en los polirribosomas citosólicos– y se deben importar. La mayoría de los avances se han realizado en el estudio de las proteínas presentes en **la matriz mitocondrial**, tales como las subunidades de la ATP sintasa (ver capítulo 13). Aquí se discutirá en detalle sólo la vía de importación de las proteínas matriciales.

Las **proteínas de la matriz** deben pasar de los polirribosomas citosólicos a través de las membranas mitocondriales externas e internas para llegar a su destino. El paso a través de las dos membranas se llama **translocación**. Ellas tienen una secuencia líder amino terminal (**presecuencia**), de unos 20 a 50 aminoácidos de longitud (cuadro 49-1), que es anfipática y contiene muchos aminoácidos hidrófobos y cargados positivamente (por ejemplo, Lys o Arg). La presecuencia es equivalente a la señal de péptido que media la unión de los polirribosomas a las membranas del ER (véase a continuación), pero en este caso direccionando las proteínas a la matriz. En la figura 49-3 se muestran algunas características generales del paso de una proteína desde el citosol a la matriz mitocondrial.

La translocación ocurre postranslacionalmente, después de que las preproteínas de la matriz se liberan de los polirribosomas citosólicos. Las interacciones con varias proteínas citosólicas que actúan como **chaperonas** (ver a continuación), y como **factores de direccionamiento**, ocurren antes de la translocación.

Dos **complejos de translocación** diferentes están situados en las membranas mitocondriales externa e interna, definidos como la **translocasa de la membrana externa** (**TOM**) y la translocasa de la membrana interna (**TIM**), respectivamente. Cada complejo ha sido analizado y se ha comprobado que está compuesto por varias proteínas, algunas de las cuales actúan como **receptores** de las proteínas entrantes (p. ej., **Tom20/22**), y otras como componentes de los poros transmembrana a través de los cuales estas proteínas debe pasar (por ejemplo, **Tom40**). Las proteínas deben estar en estado desplegado para pasar a través de los complejos, lo cual es posible gracias a **la unión ATP-dependiente a varias proteínas chaperonas**, incluida la **Hsp70** (figura 49-3). En las mitocondrias, las chaperonas están involucradas en la translocación, clasificación, plegamiento, ensamblaje y degradación de las proteínas importadas. Para importar se requiere una **fuerza protón-motriz** a través de la membrana interna; se compone del **potencial eléctrico** a través de la membrana (negativo dentro) y el **gradiente de pH** (ver capítulo 13). La secuencia directora con carga positiva se puede ayudar a través de la membrana por la carga negativa en la matriz. Además, para que se produzca la translocación es necesaria la yuxtaposición cerrada en los **sitios de contacto** entre las membranas externa e interna.

La presecuencia se divide en la matriz mediante una **proteasa de matriz**. El contacto con **otras chaperonas** presentes en la matriz es esencial para completar el proceso general de importación. La interacción con la mt-Hsp70 (mt = mitocondrial; Hsp = proteína de choque térmico; 70 = ~70 kDa) asegura una importación adecuada a la matriz, y evita el plegamiento incorrecto o la agregación, mientras que la interacción con el sistema mt-Hsp60-Hsp10 asegura una plegamiento adecuado. Las interacciones de las proteínas importadas con las chaperonas de más arriba requieren de la **hidrólisis del ATP** para conducirlas.

Lo anterior describe la principal vía de proteínas destinadas a la matriz mitocondrial. Sin embargo, ciertas proteínas se insertan en la **membrana mitocondrial externa**, facilitadas por el complejo TOM. Otras permanecen en el **espacio intermembrana**, y algunas se insertan en la **membrana interna**. No obstante, otras continúan hacia la matriz y luego regresan a la membrana interna, o al espacio intermembrana. Varias proteínas contienen dos secuencias de señalización: una para entrar en la matriz mitocondrial, y la otra para mediar en la posterior reubicación (por ejemplo, en la membrana interna). Ciertas proteínas mitocondriales no contienen presecuencias (p. ej., el citocromo *c*, que se localiza en el espacio intermembrana), y otras contienen **presecuencias internas**. En general, las proteínas emplean una variedad de mecanismos y rutas para alcanzar sus destinos finales en las mitocondrias.

Las características generales que se aplican a la importación de proteínas en los organelos, incluidas las mitocondrias y algunos

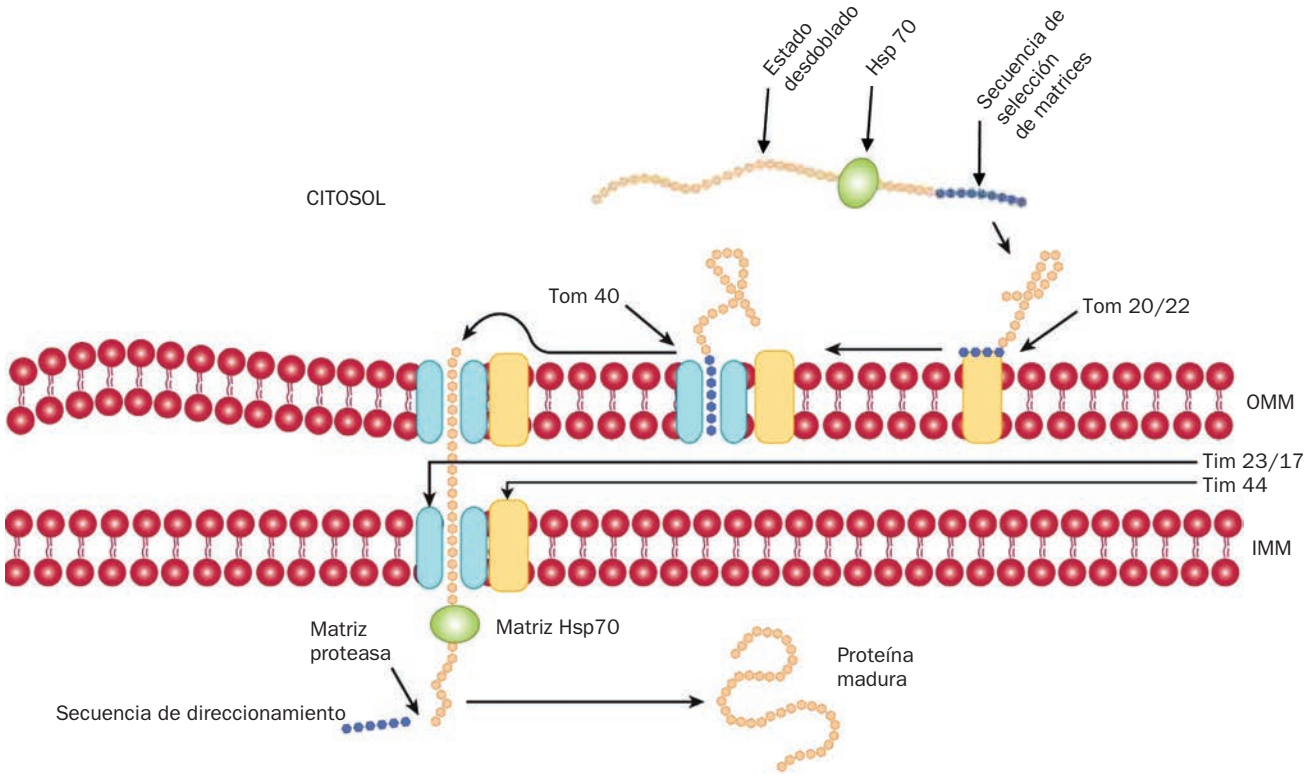


FIGURA 49-3 Entrada de una proteína en la matriz mitocondrial. Después de la síntesis de los polirribosomas citosólicos, una proteína desplegada que contiene una secuencia de selección matricial interactúa con la chaperona citosólica Hsp70, y luego con las mitocondrias (mt) a través del receptor translocón de la membrana externa (Tom) 20/22. El siguiente paso es la transferencia al canal de importación Tom 40, seguido de la translocación a través de la membrana externa. El transporte a través de la membrana mt interna se produce a través de un complejo que comprende proteínas Tim (translocón de la membrana interna), Tim 23 y Tim 17. En el interior de la membrana mt interna, la proteína interactúa con la matriz chaperona Hsp 70, que a su vez interactúa con la proteína de membrana Tim 44. La hidrólisis de ATP por mt Hsp70 probablemente ayuda a conducir la translocación, al igual que el interior electronegativo de la matriz. La secuencia de direccionamiento se divide, posteriormente, por la proteasa de la matriz, y la proteína importada asume su forma final, a veces con la ayuda previa de la interacción con una chaperonina mt. En el sitio de translocación, las membranas de mt externas e internas están en contacto directo. OMM, membrana mitocondrial externa; IMM, membrana mitocondrial interna. (Modificado, con permiso, de Lodish H, *et al*: Molecular Cell Biology, 6a. ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

CUADRO 49-3 Algunas características generales de la importación de proteínas a los orgánulos

- La importación de una proteína en un organelo por lo general tiene lugar en tres etapas: reconocimiento, translocación y maduración.
- Las secuencias de selección en la proteína se reconocen en el citoplasma, o en la superficie del organelo.
- La proteína por lo general se despliega para la translocación, un estado mantenido en el citoplasma por las chaperonas.
- El enhebrado de la proteína a través de una membrana requiere energía y chaperonas organelares en el lado *trans* de la membrana.
- Los ciclos de unión y liberación de la proteína a la chaperona provocan el tirón de su cadena polipéptida a través de la membrana.
- Otras proteínas dentro del organelo catalizan el plegamiento de la proteína, a menudo unen cofactores u oligosacáridos, y los ensamblan en monómeros u oligómeros activos.

Fuente: Datos de McNew JA, Goodman JM: The targeting and assembly of peroxisomal proteins: some old rules do not apply. Trends Biochem Sci 1998;21:54. Reprinted, with permission, from Elsevier.

otros organelos que se analizarán a continuación, se resumen en el cuadro 49-3.

El transporte de macromoléculas dentro y fuera del núcleo implica señales de localización

Se ha estimado que más de un millón de macromoléculas por minuto se transportan entre el núcleo y el citoplasma en una célula eucariótica activa. Estas macromoléculas incluyen histonas, proteínas ribosomales y subunidades ribosomales, factores de transcripción, y moléculas de RNAm. El transporte es bidireccional y ocurre a través de los **complejos de poro nuclear** (NPC). Estas son estructuras complejas con una masa de aproximadamente 15 veces la de un ribosoma, y están compuestas por agregados de unas 30 proteínas diferentes. El diámetro mínimo de un NPC es de 9 nm aproximadamente. Las moléculas de menos de 40 kDa pueden pasar a través del canal del NPC por **difusión**, pero existen **mecanismos especiales de translocación** para moléculas mayores.

Aquí describiremos el conocimiento actual sobre la **importación nuclear** de ciertas macromoléculas. La imagen general que ha sur-

gido es que las proteínas que se importan (moléculas de cargamento) llevan una **señal de localización nuclear** (**NLS**). Un ejemplo de NLS es la secuencia de aminoácidos $(Pro)_2$-$(Lys)_3$-Arg-Lys-Val (cuadro 49-1), que es muy rica en residuos básicos. Dependiendo de cuál NLS contiene, una molécula de cargamento interactúa con una de las familias de proteínas solubles llamadas **importinas**, y con los **acoples** complejos transitorios en el NPC. Otra familia de proteínas llamada Ran juega un papel regulador crítico en la interacción del complejo con el NPC, y en su translocación a través del NPC. Las proteínas Ran son pequeñas **GTPasas** nucleares monoméricas, y al igual que otras GTPasas, existen en estados ligados al guanosín trifosfato GTP o al guanosín difosfato GDP. Ellas mismas están reguladas por los **factores de intercambio de los nucleótidos de guanina** (**GEF**), que se encuentran en el núcleo, y las **proteínas aceleradoras GTPasa Ran** (**GAP**), que son predominantemente citoplasmáticas. El estado GTP-ligado de la Ran se ve favorecido en el núcleo, y el estado unido al GDP en el citoplasma. Las conformaciones y actividades de las moléculas de Ran varían dependiendo de si el GTP o el GDP están ligados a ellas (el estado de unión al GTP está activo; véase la discusión de las proteínas G en el capítulo 42). La **asimetría** entre el núcleo y el citoplasma –dos nucleótidos que se unen a las moléculas de la Ran- se considera crucial para comprender los roles de la Ran en la transferencia de complejos en una sola dirección a través del NPC. Cuando las **moléculas de cargamento** se **liberan dentro del núcleo**, las **importinas recirculan hacia el citoplasma** para ser usadas nuevamente. La figura 49-4 resume algunas de las principales características del proceso anterior.

Proteínas similares a las importinas, denominadas **exportinas**, participan en la exportación de muchas macromoléculas del núcleo (varias proteínas, moléculas de RNAt, subunidades ribosómicas y ciertas moléculas de RNAm). Las moléculas de cargamento para exportación llevan **señales de exportación nuclear** (**NES**). Las proteínas Ran también están involucradas en este proceso, y ahora se ha establecido que los procesos de importación y exportación comparten varias características comunes. La familia de importinas y exportinas se conocen como **carioferinas**.

Otro sistema está involucrado en la translocación de la mayoría de las moléculas de RNAm. Estos se exportan desde el núcleo al

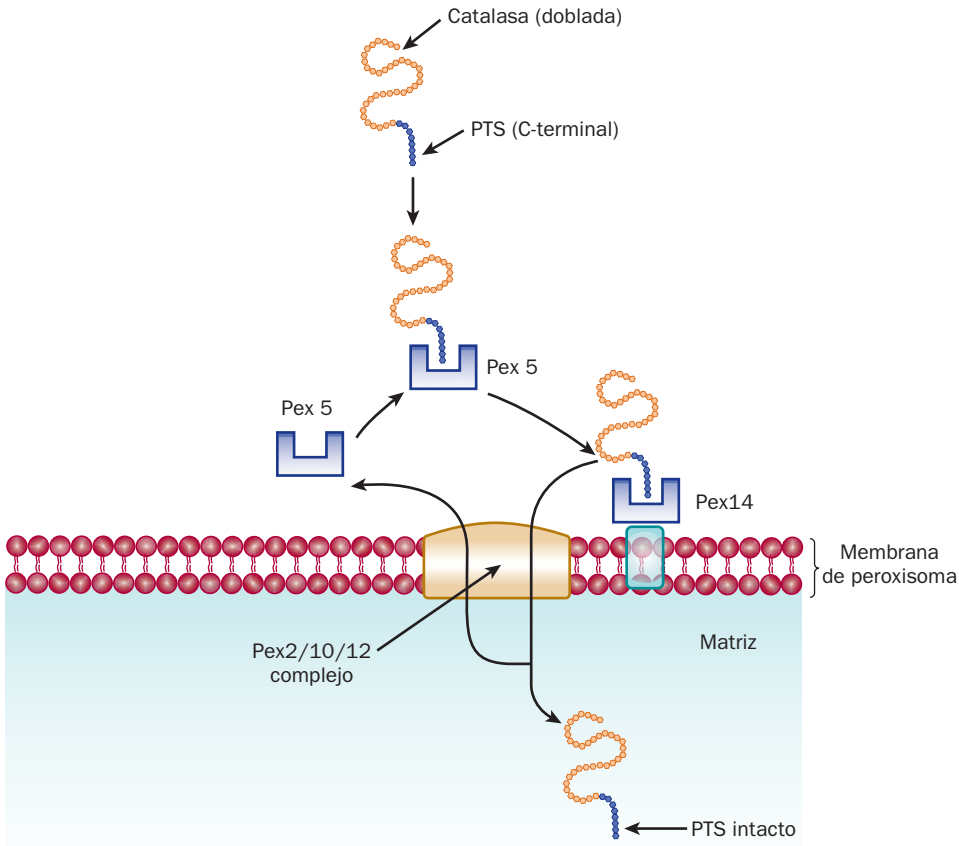


FIGURA 49-4 **Entrada de una proteína en el nucleoplasma.** Una molécula de cargamento (C) en el citoplasma interactúa a través de su señal de localización nuclear (NLS) para formar un complejo con una importina (I). (Esto puede ser importina α o ambas; importina α e importina β.) Este complejo se une a la Ran (R).GDP y atraviesa el complejo de poro nuclear (NPC) en el nucleoplasma. En el nucleoplasma, la Ran.GDP se convierte en Ran.GTP por un factor de intercambio nuclear de guanina (GEF), causando un cambio conformacional en la Ran que libera la molécula de carga. El complejo I-Ran.GTP abandona después el nucleoplasma a través del NPC, para regresar al citoplasma. Aquí la I se libera por la acción de la proteína aceleradora GTPasa (GAP), que convierte el GTP en GDP, lo cual permite que se una a otra C. El Ran.GTP es la forma activa del complejo, mientras que la forma Ran.GDP es inactiva. Se cree que la direccionalidad se confiere al proceso global mediante la disociación de la Ran.GTP en el citoplasma. (Modificado, con permiso, de Lodish H, *et al*: Molecular Cell Biology, 6a. ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

citoplasma como complejos de ribonucleoproteína (RNP) unidos a una proteína llamada **exportador de mRNP** que lleva las moléculas de RNP a través del NPC. La Ran no está involucrada. Este sistema parece usar la hidrólisis del **ATP** mediante una RNA helicasa (Dbp5) para impulsar la translocación.

Otras **pequeñas GTPasas monoméricas** (p. ej., ARF, Rab, Ras y Rho) son importantes en diversos procesos celulares como la formación y transporte de vesículas (ARF y Rab, ver a continuación), ciertos procesos de crecimiento y diferenciación (Ras) y la formación del citoesqueleto de actina (Rho). Un proceso que involucra los GTP y GDP también es crucial en el transporte de proteínas a través de la membrana del ER (ver a continuación).

Las proteínas importadas a los peroxisomas tienen secuencias únicas de direccionamiento

El peroxisoma es un organelo importante involucrado en aspectos del metabolismo de muchas moléculas, incluidos los ácidos grasos y otros lípidos (por ejemplo, plasmalógenos, colesterol, ácidos biliares), purinas, aminoácidos y peróxido de hidrógeno. El peroxisoma está delimitado por una sola membrana y contiene más de 50 enzimas; la catalasa y la urato oxidasa son enzimas marcadoras para este organelo. Sus proteínas se **sintetizan en polirribosomas citosólicos** y se pliegan antes de la importación. Se han estudiado las vías de importación de varias de sus proteínas y enzimas, algunas de las cuales son **componentes de la matriz** y otras **componentes de la membrana** (figura 49-5). Se han descubierto al menos **dos secuencias direccionales de matriz peroxisomal (PTS)**. Una, la **PTS1**, es un tripéptido (es decir, Ser-Lys-Leu [SKL]– aunque se han detectado variaciones de esta secuencia) ubicado en el terminal carboxil de un número de proteínas matriciales, incluida la catalasa. La otra, **PTS2**, es una secuencia de nueve aminoácidos en el extremo N, y se ha encontrado en al menos cuatro proteínas de la matriz (por ejemplo, tiolasa). Ninguna de estas dos secuencias se divide después de entrar en la matriz.

Las proteínas que contienen secuencias PTS1 **forman complejos** con una proteína receptora citosólica (**Pex5**), y las proteínas que contienen secuencias PTS2 complejas lo hacen con otra proteína receptora (**Pex7**). Los complejos resultantes interactúan después con un complejo receptor de membrana, **Pex2/10/12**, que los transloca a la matriz. Las proteínas implicadas en el transporte posterior de proteínas a la matriz también están presentes. La Pex5 se recicla al citosol. Se ha encontrado que la mayoría de las **proteínas de membrana peroxisomal** no contienen ninguna de las dos secuencias de direccionamiento anteriores, pero parecen contener otras. El sistema de importación puede manejar **oligómeros intactos** (p. ej., catalasa tetrámera). La importación de **proteínas matriciales** requiere ATP, mientras que la importación de proteínas de membrana no.

La mayoría de los casos de síndrome de Zellweger se deben a mutaciones en los genes implicados en la biogénesis de los peroxisomas

El interés en la importación de proteínas a los peroxisomas ha sido estimulado por estudios sobre el **síndrome de Zellweger**. Esta condición es evidente al nacer, y se caracteriza por un **profundo deterioro neurológico;** las víctimas a menudo mueren dentro del año. El número de peroxisomas puede variar desde casi normal hasta estar prácticamente ausente en algunos pacientes. Los hallazgos bioquímicos incluyen una acumulación de ácidos grasos de cadena

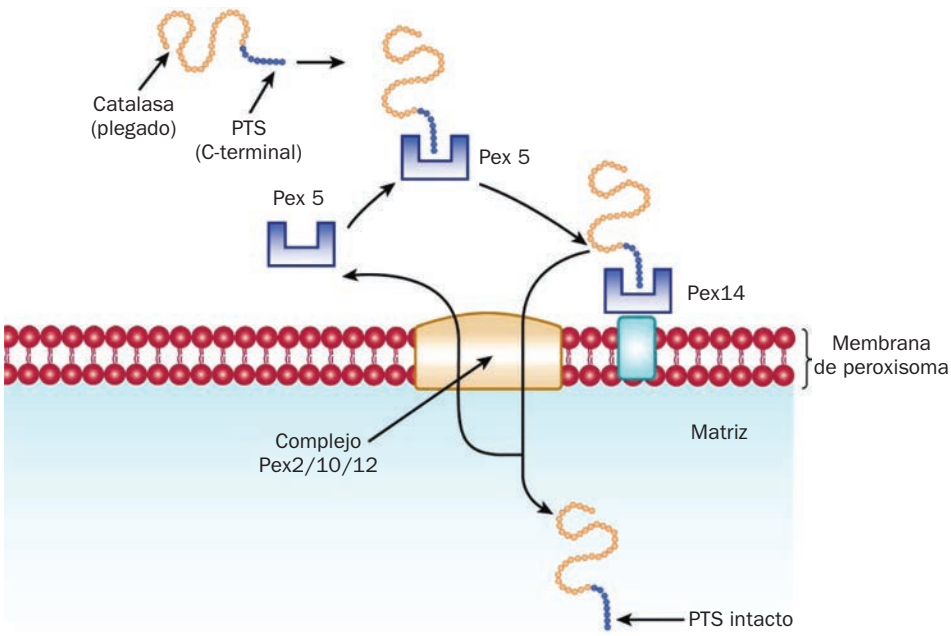


FIGURA 49-5 Entrada de una proteína en la matriz peroxisomal. La proteína a ser importada en la matriz se sintetiza en polirribosomas citosólicos, asume su forma plegada antes de la importación, y contiene una secuencia de direccionamiento peroxisomal C-terminal (PTS). Esto se une a la proteína receptora del citoprotector Pex5, y el complejo después interactúa con un receptor en la membrana peroxisomal, Pex14. A su vez, el complejo proteína-Pex 14 se pasa al complejo Pex 2/10/12 en la membrana peroxisomal y se transloca. La Pex 5 se devuelve al citosol. La proteína conserva su PTS en la matriz. (Modificado, con permiso, de Lodish H, *et al*: Molecular Cell Biology, 6a. ed. W.H. Freeman & Co, 2008).

CUADRO 49-4 Trastornos debidos a anomalías peroxisomales

	Número OMIM[a]
Síndrome de Zellweger	214100
Adrenoleucodistrofia neonatal	202370
Enfermedad Refsum infantil	266510
Acidemia hiperpipecólica	239400
Condrodisplasia de Rhizomelic punctata	215100
Adrenoleucodistrofia	300100
Adrenoleucodistrofia pseudoneonatal	264470
Síndrome de Pseudo-Zellweger	261515
Hiperoxaluria tipo 1	259900
Acatalasemia	115500
Deficiencia de Glutaril-CoA oxidasa	231690

[a]OMIM, *herencia mendeliana en línea en el hombre*. Cada número especifica una referencia en la que se puede encontrar información sobre cada una de las condiciones anteriores.
Fuente: Reproducido, con autorización, de Seashore MR, Wappner RS: *Genetics in Primary Care & Clinical Medicine*. Appleton & Lange, 1996.

muy larga, anormalidades en la síntesis de ácidos biliares, y una marcada reducción de plasmalógenos. La afección, por lo general, tiene su causa en **mutaciones** de los genes que codifican ciertas proteínas (la familia de genes PEX, también llamadas **peroxinas**), involucradas en varios pasos de la **biogénesis de los peroxisomas** (como la importación de proteínas descrita anteriormente), o en los genes que codifican ciertas enzimas peroxisomales.

Dos afecciones estrechamente relacionadas son la **adrenoleucodistrofia neonatal** y la **enfermedad infantil Refsum**. El síndrome de Zellweger y estas dos afecciones representan un **espectro** de características que se superponen; el síndrome de Zellweger es el **más grave** (muchas proteínas afectadas) y la enfermedad infantil Refsum la menos grave (sólo una o unas pocas proteínas afectadas). El cuadro 49-4 las enumera junto a las condiciones relacionadas.

LAS PROTEÍNAS CLASIFICADAS A TRAVÉS DE LA RAMA RUGOSA TIENEN PÉPTIDOS DE SEÑAL N-TERMINAL

Como se indicó anteriormente, la **rama RER** es la segunda de las dos ramas involucradas en la síntesis y clasificación de proteínas. En esta rama, las proteínas tienen **péptidos de señal N-terminal**, y se sintetizan en **polirribosomas unidos a la membrana**. Por lo general, se **translocan al lumen** del ER rugosa antes de continuar la clasificación (figura 49-2). Sin embargo, ciertas proteínas de membrana se transfieren directamente a la membrana del ER sin alcanzar su lumen.

Algunas características de los péptidos de señal N-terminal se resumen en el cuadro 49-5.

Hay mucha **evidencia en apoyo** de la hipótesis de la señal, lo que confirma que los péptidos de señal N-terminal están involucrados en el proceso de translocación de proteínas a través de la membrana ER. Por ejemplo, las proteínas mutantes que contienen péptidos de señal alterados, en los que los aminoácidos hidrofóbicos son reemplazados por hidrófilos, no se insertan en el lumen del ER. Por otro lado, las proteínas no membranosas (p. ej., la α-globina), a las que se han unido péptidos de señal mediante ingeniería genética, se pueden insertar en el lumen del ER, o incluso secretarse.

CUADRO 49-5 Algunas propiedades de los péptidos de señal al direccionar proteínas al ER

- Usualmente, pero no siempre, ubicados en el terminal amino
- Contienen aproximadamente 12-35 aminoácidos
- La metionina es por lo general el aminoácido amino-terminal
- Contiene un grupo central (~6-12) de aminoácidos hidrofóbicos
- La región cercana al N-terminal por lo general lleva una carga positiva neta
- El residuo de aminoácido en el sitio de escisión es variable, pero los residuos −1 y −3 relativos al sitio de escisión deben ser pequeños y neutros

La translocación de proteínas al retículo endoplásmico puede ser cotraslacional o postranslacional

La mayoría de las proteínas nacientes se transfieren al lumen a través de la membrana ER mediante la **vía cotranslacional**, llamada así porque el proceso ocurre durante la síntesis proteica en curso. El proceso de elongación de la porción restante de la proteína que se está sintetizando probablemente facilita el paso de la proteína naciente a través de la bicapa lipídica. Es importante que las proteínas se mantengan en el **estado desplegado** antes de ingresar al canal conductor, de lo contrario, es posible que no puedan obtener acceso al canal. El camino implica una serie de proteínas especializadas, que incluyen la **partícula de reconocimiento de señal** (**SRP**), el **receptor SRP** (**SRP-R**) y el **translocón**, que consta de tres proteínas de membrana (el complejo Sec61) que forma un **canal de conducción de proteínas** en la membrana del ER, a través del cual puede pasar la proteína recién sintetizada. El canal se abre **sólo cuando hay un péptido de señal presente**. El cierre del canal cuando las proteínas no se translocan impide que los iones como el calcio y otras moléculas se filtren a través de él, causando disfunción celular. El proceso avanza en cinco pasos que se resumen a continuación y en la figura 49-6.

Paso 1: la señal de secuencia emerge del ribosoma y se une al **SRP**. El SRP contiene **seis proteínas** asociadas con una molécula de RNA, y cada una de estas desempeña un papel (por ejemplo, unión de otra molécula) en su función. Esta etapa detiene temporalmente el alargamiento adicional de la cadena polipeptídica (detención del alargamiento), después de que se han polimerizado aproximadamente 70 aminoácidos.

Paso 2: El complejo SRP–ribosoma-proteína naciente se desplaza a la membrana ER, donde se une a la **SRP-R**, una proteína de membrana ER compuesta de dos subunidades. La subunidad α (SPR-Rα) se enlaza al complejo SRP, y la subunidad β abarcadora de membrana (SPR-Rβ) ancla la SPR-Rα en la membrana ER. La SRP guía al complejo al SRP-R, evitando la expulsión prematura del polipéptido en crecimiento al citosol.

Paso 3: Se libera el SRP, se reanuda la translación, el ribosoma se une al **translocón** (**complejo Sec 61**) y el péptido de señal se inserta en el canal de este. El SRP y ambas subunidades de SRP-R enlazan el **GTP**, esto permite su interacción, lo que resulta en la hidrólisis del GTP. El SRP después se disocia del SRP-R y se libera,

y el ribosoma se une al translocón, lo que permite que el péptido de señal entre en él.

Paso 4: El péptido de señal induce la apertura del canal en el translocón, haciendo que el tapón (que se muestra en la parte inferior del translocón en la figura 49-6) se mueva. El polipéptido en crecimiento se transloca completamente a través de la membrana, impulsado por su síntesis en curso.

Paso 5: se produce la escisión del péptido de señal por la **peptidasa de señal**, y el polipéptido/proteína completamente translocado se libera en el lumen del ER. El péptido de señal es degradado por proteasas. Los ribosomas se liberan de la membrana ER y se disocian en sus dos tipos de subunidades.

Las **proteínas secretoras** y las **proteínas solubles destinadas a los organelos distales al ER** atraviesan completamente la membrana bicapa y se descargan en el lumen. Muchas proteínas secretoras son N-glucosiladas. Las cadenas de **N-glucano**, si están presentes, se agregan mediante la enzima **oligosacárido: proteína transferasa** (véase el capítulo 46), ya que estas proteínas atraviesan la parte interna de la membrana del ER, un proceso llamado **glucosilación cotranslacional**. Más adelante estas glucoproteínas se encuentran en el lumen del **aparato de Golgi**, donde ocurren cambios adicionales en las cadenas de glucanos (ver capítulo 46), antes de la distribución o secreción intracelular.

Por el contrario, las proteínas destinadas a ser incorporadas en las **membranas del ER**, o en **otras membranas** a lo largo de la vía secretora, sólo se **translocan parcialmente** a través de la membrana ER (pasos 1-4, arriba). Se pueden insertar en la membrana ER por transferencia lateral a través de la pared del translocón (ver más abajo).

La **translocación postranslacional** de las proteínas al ER ocurre en las eucariotas, aunque es menos común que la ruta cotranslacional. El proceso (figura 49-7) involucra al complejo de translocón Sec61, el **complejo Sec62/Sec63** –que también está unido a la membrana– y las proteínas chaperonas de la familia Hsp70. Algunas de estas impiden el plegamiento de la proteína en el citosol, pero una de ellas, la **proteína de inmunoglobulina de unión (BiP)**, se encuentra dentro del lumen del ER. La proteína a translocar se une inicialmente al translocón, y se liberan chaperonas citosólicas. Entonces el extremo delantero del péptido se une a la BiP en el lumen. El ATP unido a la BiP interactúa con el Sec62/63, el ATP se hidroliza a ADP proporcionando energía para mover la proteína hacia delante, mientras que el BiP-ADP unido evita que se mueva hacia atrás en el citosol. Entonces puede ser arrastrado por la unión secuencial de las moléculas BiP y la hidrólisis del ATP. Cuando toda la proteína ha ingresado al lumen, el ADP se intercambia por ATP, lo que permite que se libere la BiP. Además de su función en la clasificación de proteínas al lumen del ER, la BiP **promueve el plegamiento adecuado al evitar la agregación**, y se unirá temporalmente a las cadenas pesadas de inmunoglobulina plegadas de forma anormal, y a muchas otras proteínas, lo que evita que abandonen el ER.

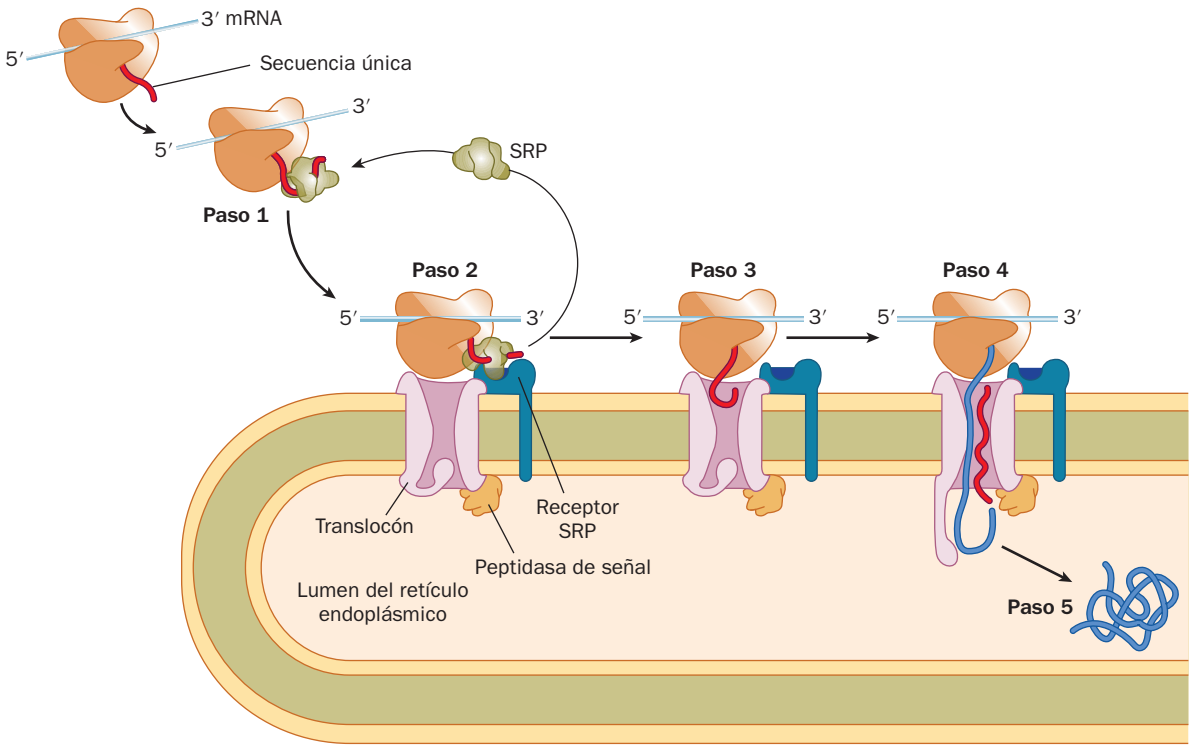


FIGURA 49-6 **Fijación cotranslacional de las proteínas secretoras al ER. Paso 1:** A medida que la señal de secuencia emerge del ribosoma, es reconocida y unida por la partícula de reconocimiento de señal (SRP), y se detiene la translación. **Paso 2:** El SRP escolta al complejo a la membrana ER donde se une al receptor SRP (SR). **Paso 3:** Se libera la SRP, el ribosoma se une al translocón, se reanuda la translación, y la señal de secuencia se inserta en el canal de la membrana. **Paso 4:** La señal de secuencia abre el translocón y la cadena polipeptídica en crecimiento se transloca a través de la membrana. **Paso 5:** La división de la secuencia de señal por la peptidasa de señal libera el polipéptido en el lumen del ER. (Reproducido, con permiso, de Cooper GM, Hausman ER: The Cell: A Molecular Approach. Sinauer Associates, Inc, 2009).

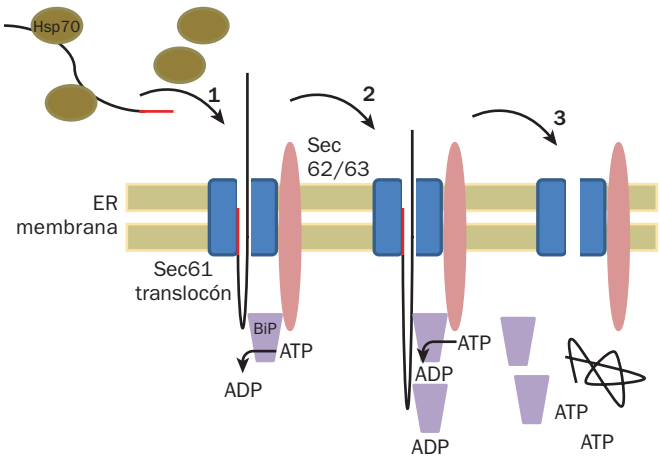


FIGURA 49-7 Translocación postranslacional de proteínas al ER. 1) Las proteínas sintetizadas en el citosol están impedidas de plegarse por las proteínas chaperonas, tal como los miembros de la familia Hsp70. La señal de secuencia N-terminal se inserta en el complejo de translocón Sec61 y se liberan las chaperonas citosólicas. La BiP interactúa con la proteína y el complejo Sec62/63, y su ATP ligado se hidroliza a ADP. 2) Se evita que la proteína se mueva de regreso al citosol por la BiP enlazada, y la unión sucesiva de la BiP y la hidrólisis del ATP lleva la proteína al lumen. 3) Cuando toda la proteína está adentro, se intercambia el ADP por ATP y se libera la BiP.

Existe evidencia de que la membrana ER está involucrada en el **transporte retrógrado** de varias moléculas, desde el lumen del ER **al citosol**. Estas moléculas incluyen glucoproteínas desplegadas o mal plegadas, glucopéptidos, y oligosacáridos. Al menos algunas de estas moléculas se **degradan en proteasas** (ver más abajo). La participación del translocón en la retrotranslocación no está clara; uno o más canales pueden estar involucrados. En cualquier caso, hay un **tráfico bidireccional** a través de la membrana ER.

LAS PROTEÍNAS SIGUEN VARIAS RUTAS PARA INSERTARSE O ADJUNTARSE EN LAS MEMBRANAS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

Las rutas que siguen las proteínas para insertarse en las membranas del ER incluyen la inserción cotranslacional, inserción postranslacional, retención en el GA seguida de recuperación al ER, y transporte retrógrado desde el GA.

La inserción cotranslacional requiere de secuencias de parada de transferencia o secuencias de inserción interna

La figura 49-8 muestra una variedad de formas en que las proteínas se distribuyen en las membranas. En particular, se puede ver que los **terminales amino** de ciertas proteínas (por ejemplo, el receptor de lipoproteína de baja densidad [LDL]) está en la cara extracitoplásmica, mientras que para otras proteínas (por ejemplo, el receptor asialoglucoproteína) los **terminales carboxilo** están en esa cara. Estas disposiciones se explican por los eventos de biosintésis iniciales en la membrana ER. Las proteínas como el **receptor LDL** ingresan a la membrana ER de forma análoga a una proteína secretora (figura 49-6), atraviesan parcialmente la membrana ER, el péptido señal se escinde, y su terminal amino sobresale en el lumen (véase también la figura 49-14). Sin embargo, este tipo de proteína contiene un segmento altamente hidrofóbico, que actúa como una **señal de transferencia-parada o -detención**, y origina su retención en la membrana (figura 49-9). Esta secuencia tiene su extremo N-termi-

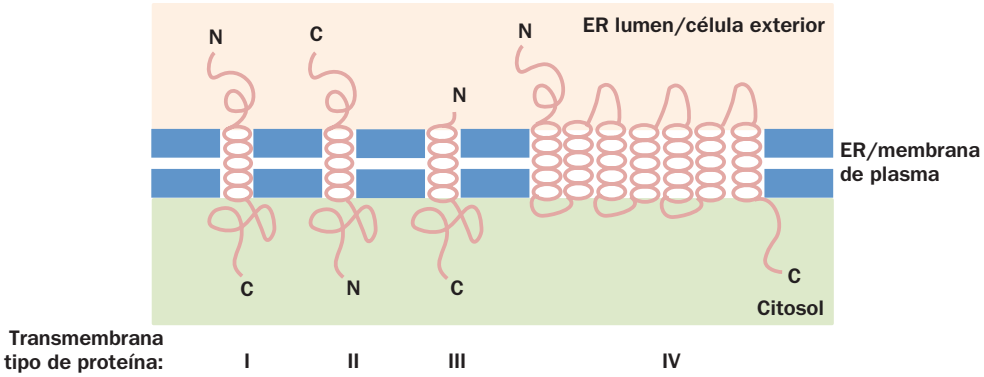


FIGURA 49-8 Variaciones en la forma en que las proteínas se insertan en las membranas. Esta representación esquemática ilustra un número de orientaciones posibles. Las orientaciones se forman inicialmente en la membrana ER, pero se retienen cuando las vesículas se desprenden y se fusionan con la membrana plasmática, de modo que el terminal que mira hacia el lumen del ER siempre observa hacia el exterior de la célula. Las proteínas transmembrana de tipo I (por ejemplo, el receptor de LDL y la hemaglutinina de la influenza) cruzan la membrana una vez y tienen sus extremos amino en el exterior del lumen/célula del ER. Las proteínas transmembrana de tipo II (por ejemplo, los receptores de asialoglucoproteína y transferrina) también atraviesan la membrana una vez, pero tienen sus extremos C en el exterior del lumen/célula del ER. Las proteínas transmembrana de tipo III (p. ej., el citocromo P450, una proteína de membrana ER) tienen una disposición similar a las proteínas de tipo I, pero no contienen un péptido de señal divisible. Las proteínas transmembrana tipo IV (p. ej., receptores acoplados a la proteína G y a transportadores de glucosa) cruzan la membrana varias veces (7 veces para la primera y 12 veces para la segunda); también se llaman proteínas de membrana politópicas. (C, terminal de carboxilo; N, terminal amino).

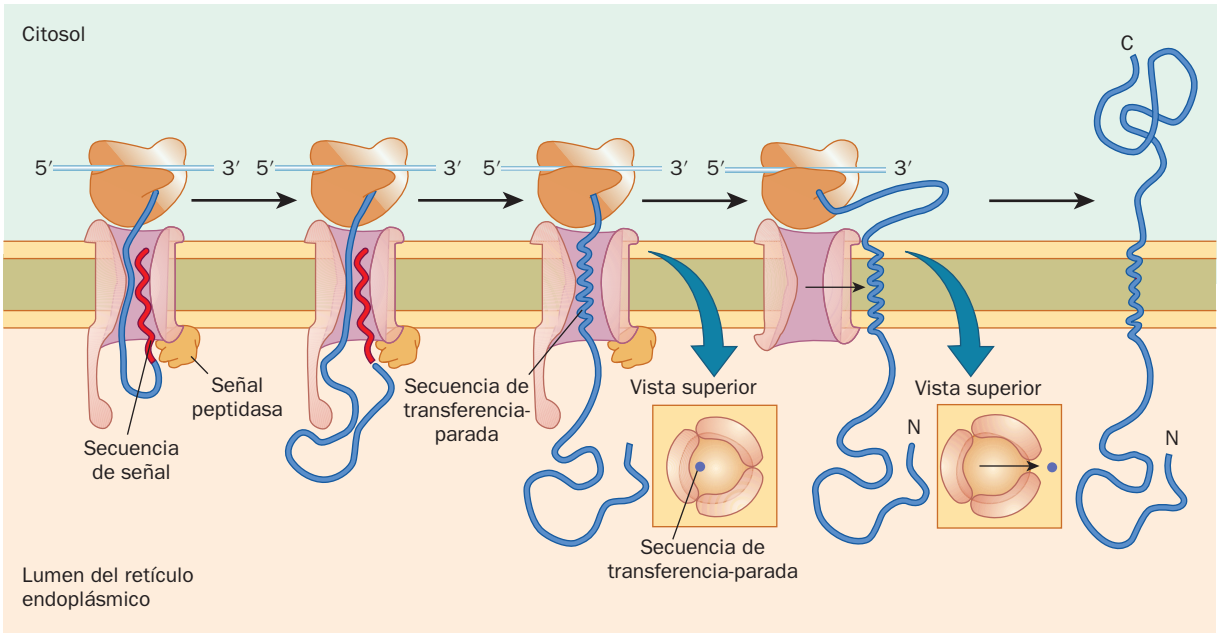


FIGURA 49-9 Inserción de una proteína de membrana con una señal de secuencia divisible y una secuencia única de transferencia-parada. La señal de secuencia se divide a medida que la cadena polipeptídica cruza la membrana, por lo que el extremo amino de la cadena polipeptídica queda expuesto en el lumen del ER. Sin embargo, la translocación de la cadena polipeptídica a través de la membrana se detiene cuando el translocón reconoce una secuencia de transferencia de parada transmembrana. Esto permite que la proteína salga del canal a través de una puerta lateral, y se ancle en la membrana ER. La traslación continua da como resultado una proteína que abarca la membrana con su extremo carboxi en el lado citosólico. (Reproducido con permiso de Cooper GM, Hausman ER: The Cell: A Molecular Approach. Sinauer Associates, Inc, 2009).

nal en el lumen ER y el C-terminal en el citosol; la señal de transferencia-parada forma el único segmento transmembrana de la proteína, y es su dominio de anclaje a la membrana. Se cree que la proteína sale del translocón dentro de la membrana mediante una puerta lateral que se abre y cierra de manera continua, permitiendo que las secuencias hidrofóbicas entren en la bicapa lipídica.

El pequeño parche de membrana ER en el que se encuentra el receptor de LDL, recién sintetizado, se abre como un componente de una vesícula de transporte que finalmente se fusiona con la membrana plasmática, de modo que el C-terminal enfrenta el citosol, y el N-terminal enfrenta el exterior la celda (figura 49-14). Por el contrario, el receptor de **asialoglucoproteína** carece de un péptido de señal N-terminal divisible, pero posee una **secuencia de inserción interna** que se introduce en la membrana, pero no se divide. Esto actúa como un ancla, y su C-terminal se extruye a través de la membrana hacia el lumen ER. El citocromo P450 está anclado de una manera similar, pero su N-terminal, en lugar del C-terminal, se extruye en el lumen. La disposición más compleja de un **transportador transmembrana** (por ejemplo, para la glucosa) que puede atravesar la membrana hasta 12 veces, se puede explicar por el hecho de que las α-hélices alternas en las transmembranas actúan como secuencias de inserción no divididas, y como señales de transferencia-parada, respectivamente. Cada par de segmentos helicoidales se inserta como una horquilla. Las secuencias que determinan la estructura de una proteína en una membrana se llaman **secuencias topogénicas.** El receptor de LDL, el receptor de asialoglucoproteína, y el transportador de glucosa, son ejemplos de proteínas transmembrana tipo I, II y IV y se encuentran en la membrana plasmática, mientras que el citocromo P450 es un ejemplo de una proteína tipo III que permanece en la membrana ER (figura 49-8).

Algunas proteínas se sintetizan en polirribosomas libres y se unen a la membrana del retículo endoplásmico postranslacionalmente

Las proteínas pueden ingresar a la membrana del ER postranslacionalmente a través de la puerta lateral en el translocón, de una manera similar a las moléculas clasificadas cotranslacionalmente. Un ejemplo es el **citocromo b_5**, que parece entrar en la membrana ER después de la traslación, asistido por varias chaperonas.

Otras rutas incluyen retención en el GA con recuperación al ER y también transporte retrógrado desde el GA

Cierta cantidad de proteínas poseen la secuencia de aminoácidos **KDEL** (Lys-Asp-Glu-Leu) en su terminal carboxilo (cuadro 49-1). Las proteínas que contienen KDEL viajan primero al GA en **vesículas recubiertas con la proteína de recubrimiento II (COPII)** (ver a continuación). Este proceso se conoce como **transporte vesicular anterógrado**. En el GA interactúan con una proteína receptora KDEL específica, que las retiene transitoriamente. Luego **vuelven al ER en vesículas recubiertas con COPI (transporte vesicular retrógrado)**, donde se disocian del receptor y así se recuperan. Las secuencias HDEL (H = histidina) tienen un propósito similar. Los procesos anteriores dan como resultado la localización neta de ciertas proteínas solubles en el lumen ER.

Algunas otras **proteínas que no contienen KDEL** también pasan al aparato de Golgi y luego regresan por vía transvesicular retrógrada al ER, para ser insertadas allí mismo. Estas incluyen componen-

tes de vesículas que se deben reciclar, así como ciertas proteínas de membrana del ER. Estas proteínas poseen a menudo una señal C-terminal, localizada en el citosol rico en residuos básicos.

Así, las proteínas alcanzan la membrana ER por una variedad de rutas, y es probable que se usen vías similares para otras membranas (p. ej., las membranas mitocondriales y la membrana plasmática). Se han identificado secuencias de direccionamiento precisas en algunos casos (por ejemplo, las secuencias KDEL).

El tema de la biogénesis de membranas se trata más adelante en este capítulo.

LAS ER FUNCIONAN COMO EL COMPARTIMIENTO DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA CÉLULA

Después de ingresar al ER, las proteínas recién sintetizadas se pliegan con la ayuda de chaperonas y enzimas plegables, y su estado de plegamiento se controla mediante chaperonas, y también por enzimas (cuadro 49-6).

La chaperona **calnexina** es una proteína calcio-enlazante localizada en la membrana ER. Esta se une a una amplia variedad de proteínas, incluidos los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y algunas plasmáticas. Como se describe en el capítulo 46, la calnexina se une a las especies de glucoproteínas monoglucosiladas que se producen durante el procesamiento de las glucoproteínas, reteniéndolas en el ER hasta que se pliegan correctamente. La **calreticulina**, que también es una proteína que se une al calcio, tiene propiedades similares a las de la calnexina, pero no está unida a la membrana. Además de las chaperonas, dos enzimas en el lumen del ER se ocupan del plegamiento adecuado de las proteínas. **La proteína isomerasa disulfuro (PDI)** promueve la formación rápida y la reorganización de los enlaces disulfuro hasta que se logra el conjunto correcto. La **peptidil prolil isomerasa (PPI)** acelera el plegamiento de las proteínas que contienen prolina, catalizando la isomerización cis-trans de los enlaces X-Pro, donde X es cualquier residuo de aminoácido.

Las proteínas mal plegadas, o plegadas de forma incompleta, interactúan con las chaperonas que las retienen en el ER y evitan que se exporten a sus destinos finales. Si tales interacciones continúan durante un lapso de tiempo prolongado, la **degradación asociada al ER (ERAD)** evita la acumulación dañina de proteínas mal plegadas. En una serie de enfermedades genéticas, como la fibrosis cística, las proteínas mal plegadas se retienen en el ER, y en algunos casos las proteínas retenidas todavía exhiben alguna actividad funcional. Como se discutirá más adelante en este capítulo, actualmente se están investigando fármacos que interactúen con tales proteínas y promuevan su correcto plegado y exportación fuera del ER.

CUADRO 49-6 Algunas chaperonas y enzimas involucradas en el plegamiento localizadas en el retículo rugoso endoplásmico

- BiP (proteína de unión de cadena pesada de inmunoglobulina)
- GRP94 (proteína regulada por glucosa)
- Calnexina
- Calreticulina
- PDI (proteína disulfuro isomerasa)
- PPI (peptidil prolil cis-trans isomerasa)

LAS PROTEÍNAS MAL PLEGADAS EXPERIMENTAN UNA DEGRADACIÓN ASOCIADA AL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

El mantenimiento de la **homeostasis en el ER** es importante para la función celular normal. La perturbación del entorno único dentro del lumen del ER (p. ej., por cambios en el Ca^{2+} del ER, alteraciones del estado redox, exposición a diversas toxinas o algunos virus), puede conducir a una reducción de la capacidad del plegamiento de proteínas, y a la acumulación de proteínas mal plegadas en el ER, lo cual se conoce como **estrés ER**. La **respuesta de proteína no-plegada (UPR)** es un mecanismo dentro de las células que detecta los niveles de proteínas mal plegadas y activa los mecanismos de señalización intracelular para restaurar la homeostasis ER. El UPR se inicia con los **sensores de estrés ER**, que son proteínas transmembrana integradas en la membrana ER. Su activación provoca tres efectos principales: 1) inhibición transitoria de la traslación, de modo que se reduce la síntesis de nuevas proteínas, 2) inducción de la transcripción para aumentar la expresión de las chaperonas ER, y 3) aumento de la síntesis de proteínas involucradas en la degradación de proteínas ER mal plegadas (discutido a continuación). Así, la UPR aumenta la capacidad de plegamiento ER y evita la acumulación de productos de proteínas improductivos y potencialmente tóxicos, además de promover otras respuestas para restaurar la homeostasis celular. Sin embargo, si persiste el deterioro del plegamiento, se activan las vías de muerte celular (apoptosis). Es probable que la comprensión más completa de la UPR proporcione nuevos enfoques para tratar enfermedades en las que se produce estrés ER y plegamiento de proteínas defectuoso (cuadro 49-7). Las proteínas que se pliegan erróneamente en el ER se degradan por la vía ERAD (figura 49-10). Este proceso transporta selectivamente tanto las proteínas luminales como de membrana **hacia atrás, a través del ER (translocación retrógrada o dislocación)** hacia el citosol, donde se degradan en proteosomas (véase el capítulo 28). Los **chaperonas** presentes en el lumen del ER (p. ej., la BiP) ayudan a direccionar las proteínas mal plegadas hacia los proteosomas.

La reunión del translocón de retrotranslocación que comprende un número de proteínas se inicia mediante el reconocimiento de las proteínas mal plegadas. Se cree que se producen varios tipos de translocones, pero uno típico puede incluir Sec61, Derlin, Hrd1 y Sel1L. A medida que se produce la retrotranslocación, las proteínas mal plegadas son poliubiquinadas (véase capítulo 28) mediante ubiquitina-ligasas en el lado citosólico, y luego extraídas de la membrana por la **P97**, una **AAA-ATPasa** (ATPasa asociada a diversas actividades celulares) y entregadas al proteosoma para su degradación, con la ayuda de chaperonas del receptor de ubiquitina.

La ubiquitina es una molécula clave en la degradación de las proteínas

Hay dos vías principales de degradación de proteínas en las eucariotas. Una involucra las **proteasas lisosomales** y no requiere ATP, pero la vía principal involucra la **ubiquitina** y es dependiente de ATP. La vía de la ubiquitina está particularmente asociada con la **eliminación de las proteínas mal plegadas y las enzimas reguladoras que tienen corta vida media**. Se sabe que la ubiquitina participa en diversos procesos fisiológicos importantes, incluida la **regulación del ciclo celular** (degradación de las ciclinas), la **reparación del**

CUADRO 49-7 Algunas enfermedades de conformación causadas por anomalías en el transporte intracelular de proteínas específicas y enzimas debidas a mutaciones[a]

Enfermedad	Proteína afectada
Deficiencia de α_1-antitripsina con enfermedad hepática	α_1-antitripsina
Síndrome Chediak-Higashi	Regulador de trafico lisosomal
Deficiencia combinada de los factores V y VIII	ERGIC53, una lectina manosa-enlazante
Fibrosis quística	CFTR
Diabetes mellitus (algunos casos)	Receptor de insulina (subunidad α)
Hipercolesterolemia familiar, autosómica dominante	Receptor de LDL
Enfermedad de Gaucher	β-glucosidasa
Hemofilia A y B	Factores VIII y IX
Hemocromatosis hereditaria	HFE
Síndrome de Hermansky-Pudlak	AP-3 adaptador complejo subunidad β3A
Enfermedad de células I	*N*-acetilglucosamina 1-fosfotransferasa
Síndrome de Lowe oculocerebrorrenal	PIP_2 5-fosfatasa
Enfermedad de Tay-Sachs	β-hexosaminidasa
Enfermedad de Von Willebrand	Factor de Von Willebrand

Abreviaturas: LDL, lipoproteína de baja densidad; PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato.

[a] Ver Schroder M, Kaufman RJ: The mammalian unfolded protein response. Annu Rev Biochem 2005;74:739 and Olkonnen V, Ikonen E: Genetic defects of intracellular membrane transport. N Eng J Med 2000;343:10095.

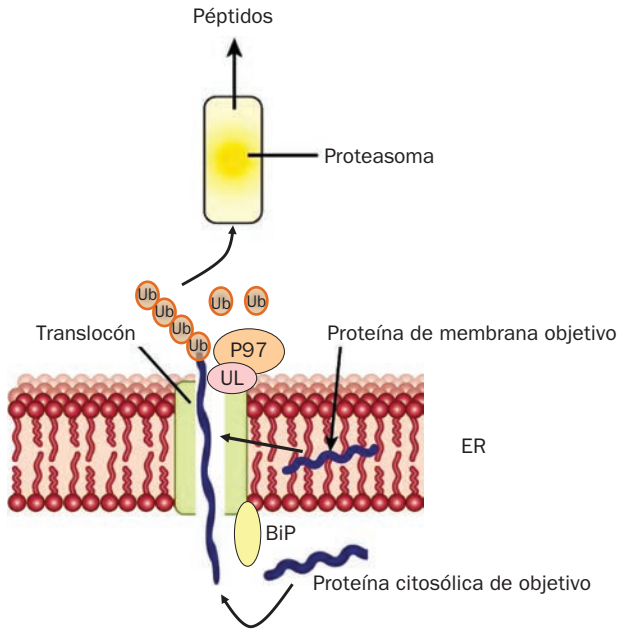


FIGURA 49-10 Esquema simplificado de los eventos en la ERAD. Una proteína objetivo ER que se pliega incorrectamente en el lumen o en la membrana experimenta un transporte retrógrado al citosol, a través de un translocón que está compuesto por varias proteínas, que incluyen la Sec61, Derlin, Hrd1 y Sel1L. Las proteínas chaperonas como la BiP direccionan las proteínas mal plegadas para su retrotranslocación. A medida que la proteína ingresa en el citosol es ubiquinada por las ubiquitina ligasas (UL), extraída de la membrana por la P97, una AAA-ATPasa, y liberada al proteosoma con la ayuda de las chaperonas del receptor de ubiquitina. Dentro del proteosoma se degrada a pequeños péptidos que pueden tener varios destinos después de la salida.

DNA, la **inflamación** y la **respuesta inmune** (capítulo 52), la **pérdida de masa muscular**, **infecciones virales** y muchas otras. La ubiquitina es una proteína pequeña y muy protegida (76 aminoácidos), que marca diversas proteínas para la degradación en proteosomas (p. ej., una forma mal plegada del regulador de la conducción transmembrana de la fibrosis quística [CFTR] –la proteína involucrada en la causa de la fibrosis quística–; véase el capítulo 40). El mecanismo de unión de la ubiquitina a una proteína objetivo se muestra en la figura 28-2, y el proceso se describe en detalle en el capítulo 28.

Las proteínas ubiquitinadas se degradan en los proteasomas

Las proteínas objetivo poliubiquitinadas entran en los **proteasomas** localizados en el citosol. Los proteasomas son complejos proteicos con una relativa **gran estructura cilíndrica**, y están compuestos por cuatro anillos con un núcleo **hueco** que contiene los sitios activos de la proteasa, y una o dos **tapas** o **partículas reguladoras** que reconocen los sustratos poliubiquinados e inician la degradación (figuras 28-3 y 28-4). Las proteínas objetivo están desplegadas por las ATPasas presentes en los proteosomas. Los proteasomas pueden hidrolizar una amplia variedad de enlaces peptídicos. Las proteínas objetivo pasan al núcleo para degradarse a péptidos pequeños, que luego salen del proteasoma para degradarse aún más mediante las peptidasas citosólicas. Ambas proteínas, normal y anormalmente plegadas, son sustratos para el proteasoma. Las moléculas de ubiquitina liberadas se reciclan. El proteosoma desempeña un papel importante en **presentar péptidos pequeños** producidos por la **degradación de diversos virus** –y otras moléculas– a moléculas **MHC de clase I**, un paso clave en la presentación de antígenos a los linfocitos T.

LAS VESÍCULAS DE TRANSPORTE SON PARTICIPANTES CLAVE EN EL TRÁFICO INTRACELULAR DE PROTEÍNAS

Las proteínas que se sintetizan en los polirribosomas unidos a la membrana, y están destinadas al GA o la PM, llegan a estos sitios dentro de las **vesículas de transporte**. Como se indica en el cuadro 49-8, hay varios tipos de vesículas. Puede haber otros tipos de vesículas aún por descubrir.

CUADRO 49-8 Algunos tipos de vesículas y sus funciones

Vesícula	Función
COPI	Implicada en el transporte intra-GA y en el transporte retrógrado desde el GA hasta el ER
COPII	Involucrada en la exportación desde el ER al ERGIC o GA
Clatrina	Involucrada en el transporte en ubicaciones posteriores al GA, incluidos la PM, TGN y endosomas
Vesículas secretoras	Involucradas en la secreción regulada de órganos como el páncreas (p. ej., secreción de insulina)
Vesículas de la TGN a la PM	Llevan proteínas a la PM y también están involucradas en la secreción constitutiva

Abreviaturas: ER, retículo endoplásmico; ERGIC, compartimento intermedio ER-GA; GA, aparato de Golgi; PM, membrana plasmática; TGN, red *trans*-Golgi (la red de membranas localizada en el lado del aparato de Golgi distal al ER).
Nota: Cada vesícula tiene su propio conjunto de proteínas de la cubierta. La clatrina está asociada a diversas proteínas adaptadoras que forman diferentes tipos de vesículas de clatrina, con diferentes objetivos intracelulares.

Cada vesícula tiene su propio conjunto de proteínas de la cubierta. La **clatrina** se usa en vesículas destinadas a la exocitosis (véanse las discusiones sobre el receptor de LDL en los capítulos 25 y 26), y en algunas de las que transportan cargamento a los lisosomas. Esta proteína consta de tres espirales entrelazadas, que interactúan para formar un enrejado alrededor de la vesícula. Las COPI y COPII, vesículas involucradas en el **transporte retrogrado** (desde la GA hasta el ER) y el transporte anterógrado (desde el ER hasta la GA) respectivamente, están libres de clatrina. Las vesículas de transporte y secretoras que transportan carga del GA a la PM también están libres de clatrina. Aquí nos enfocamos principalmente en la COPII, COPI y en las vesículas recubiertas de clatrina. Cada tipo tiene un complemento diferente de proteínas en su envoltura. En aras de la claridad, las vesículas no revestidas con clatrina se denominan en este texto **vesículas de transporte**. Los principios relativos al ensamblaje de estos diferentes tipos son generalmente similares, aunque algunos detalles del ensamblaje de las COPI y las vesículas revestidas con clatrina difieren de los de las COPII (ver a continuación).

El modelo de las vesículas de transporte involucra SNARE y otros factores

Las **vesículas** se encuentran en el corazón del transporte intracelular de muchas proteínas. Los **enfoques genéticos** y los **sistemas libres de células** se han utilizado para dilucidar los mecanismos de formación y transporte de vesículas. El proceso global es complejo, e implica una variedad de proteínas citosólicas y de membrana, GTP, ATP y factores accesorios. La **incrustación**, el **anclaje**, el **acoplamiento** y la **fusión de membranas** son pasos clave en los ciclos de vida de las vesículas, y las proteínas de unión al GTP –**Sar1, ARF y Rab**– actúan como **interruptores moleculares**. La Sar1 es la proteína implicada en el paso 1 de la formación de vesículas COPII, mientras que la ARF está implicada en la formación de COPI y vesículas recubiertas de clatrina. Las funciones de las diversas proteínas involucradas en el procesamiento de vesículas y las abreviaturas utilizadas se muestran en el cuadro 49-9.

CUADRO 49-9 Algunos factores implicados en la formación de vesículas recubiertas sin clatrina y su transporte

- ARF: factor ADP-ribosilación, una GTPasa involucrada en la formación de las COPI y también en vesículas recubiertas de clatrina.
- Proteínas de recubrimiento: una familia de proteínas que se encuentran en vesículas recubiertas. Las diferentes vesículas de transporte tienen diferentes complementos de proteínas de recubrimiento.
- NSF: factor sensible a la *N*-etilmaleimida, una ATPasa.
- Sar1: una GTPasa que desempeña un papel clave en el ensamblaje de vesículas COPII.
- Sec12p: un factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) que interconvierte Sar1.GDP y Sar1.GTP.
- α-SNAP: proteína de unión a NSF soluble. Junto con la NSF, esta proteína participa en la disociación de los complejos SNARE.
- SNARE: receptor SNAP. Los SNARE son moléculas clave en la fusión de vesículas con membranas aceptoras.
- t-SNARE: objetivo SNARE.
- v-SNARE: vesícula SNARE.
- Proteínas Rab: una familia de proteínas relacionadas con las Ras (GTPasas monoméricas), observadas por primera vez en el cerebro de ratas. Están activas cuando el GTP está vinculado. Diferentes moléculas de Rab abordan diferentes vesículas en las membranas receptoras.
- Proteínas efectoras de Rab: una familia de proteínas que interactúan con las moléculas de las Rab; algunas actúan para unir vesículas a membranas receptoras.

Hay pasos generales comunes en la formación de las vesículas de transporte, su direccionamiento, y la fusión con una membrana objetivo, con independencia de la membrana, de donde se forma la vesícula, o de su destino intracelular. La naturaleza de las proteínas de recubrimiento, las GTPasas, y los factores de selección, difieren en dependencia de dónde se forma la vesícula y su destino final. El mejor ejemplo estudiado es el transporte anterógrado del ER al aparato de Golgi con vesículas de COPII. Se puede considerar que el proceso ocurre en ocho pasos (figura 49-11). El concepto básico es que cada vesícula de transporte está cargada con un cargamento específico, y también con una o más proteínas **v-SNARE** que gobiernan la direccionalidad. Cada membrana objetivo porta una o más **proteínas t-SNARE complementarias,** con las que interactúan las v-SNARE mediando la fusión de la membrana vesicular dependiente de la proteína SNARE. Además, las proteínas Rab también ayudan a direccionar las vesículas a membranas específicas y su anclaje a una membrana objetivo.

Paso 1: La formación de **brotes** se inicia cuando la GTPasa **Sar1** se activa mediante la unión del GTP en intercambio con el GDP, por la acción del factor de intercambio del nucleótido de guanina (GEF) **Sec12p** (cuadro 49-9), cambiándolo de una forma soluble a una forma ligada a la membrana, mediante un cambio conformacional que expone una cola hidrofóbica. Esto permite que se incruste en la membrana ER a formar un punto focal para la reunión de vesículas.

Paso 2: Diversas **proteínas de recubrimiento** se unen a la **Sar1.GTP**. A su vez, las proteínas de cargamento de membrana se unen a las proteínas de la cubierta, ya sea **directamente** o a través de **proteínas intermediarias** que se unen a las proteínas de recubrimiento, y luego se encierran en sus vesículas apropiadas. Las proteínas solubles del cargamento se unen a regiones receptoras dentro de las vesículas. Se han identificado varias **secuencias de señales** en las

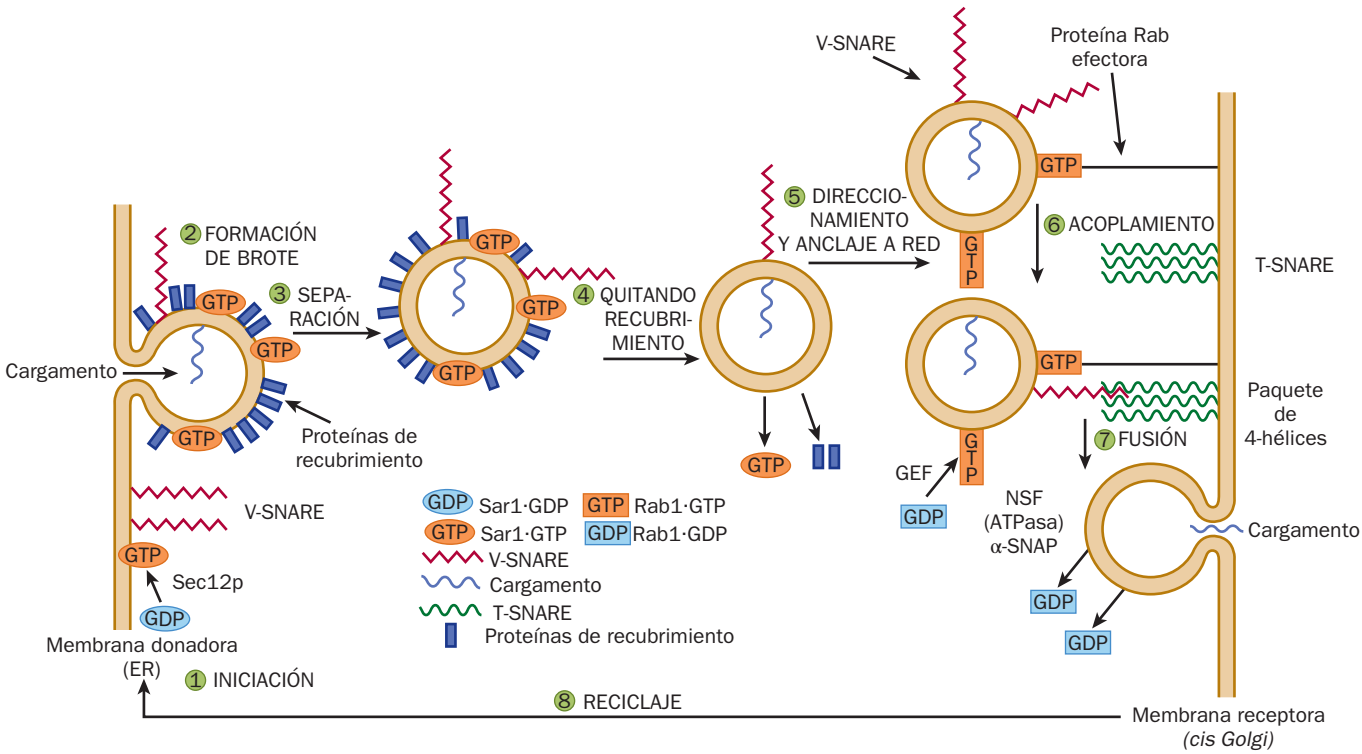


FIGURA 49-11 **Modelo de los pasos en una ronda de transporte anterógrado que involucra vesículas COPII. Paso 1**: La Sar1 se activa cuando el GDP se intercambia por GTP y se integra en la membrana ER para formar un punto focal para la formación de brotes. **Paso 2**: las proteínas de recubrimiento se unen a la Sar1.GTP y las proteínas de cargamento se encierran dentro de las vesículas. **Paso 3:** el brote se desprende formando una vesícula recubierta completa. Las vesículas se mueven a través de las células a lo largo de los microtúbulos o de los filamentos de actina. **Paso 4**: la vesícula pierde la cubierta cuando el GTP se hidroliza a GDP por la Sar1. **Paso 5**: las moléculas de Rab se unen a las vesículas después del cambio de Rab.GDP a Rab.GTP, un GEF específico (consulte el cuadro 49-9). Las proteínas efectoras de la Rab en las membranas objetivo se unen a la Rab.GTP, uniendo las vesículas a la membrana objetivo. **Paso 6**: Las v-SNARE se emparejan con las t-SNARE afines en la membrana objetivo, para formar un paquete de cuatro hélices que sujeta las vesículas e inicia la fusión. **Paso 7**: Cuando las v- y las t-SNARE están estrechamente alineadas, la vesícula se funde con la membrana y se libera su contenido. Entonces el GTP se hidroliza a GDP, y las moléculas de Rab.GDP se liberan en el citosol. Una ATPasa (NSF) y una α-SNAP (consulte el cuadro 49-9) disocian el paquete de cuatro hélices entre las v- y las t-SNARE para que se puedan reutilizar. **Paso** 8: Las proteínas Rab y SNARE se reciclan para futuras rondas de fusión de vesículas. (Adaptado, con autorización, de Rothman JE: Mechanisms of intracellular protein transport. Nature 1994;372:55).

moléculas de cargamento (cuadro 49-1). Por ejemplo, las secuencias KDEL direccionan ciertas proteínas en flujo retrógrado desde el GA hasta el ER en las vesículas COPI. Las secuencias diácidas (p. ej., Asp-X-Glu, X = cualquier aminoácido) y las secuencias hidrofóbicas cortas en las proteínas de membrana, destinadas a la membrana GA, están implicadas en las interacciones con las proteínas de cubierta de las vesículas COPII. Sin embargo, no todas las moléculas de cargamento tienen una señal de clasificación. Algunas proteínas secretoras muy abundantes viajan a diversos destinos celulares en vesículas de transporte por **flujo a granel**; es decir, entran en las vesículas de transporte con la misma concentración con que ocurren en el organelo. Sin embargo, parece ser que la mayoría de las proteínas se clasifican (concentran) activamente en las vesículas de transporte, y solo un grupo selecto de proteínas de cargamento utiliza el flujo a granel. Proteínas de recubrimiento adicionales se reúnen para completar la formación de brotes, contribuyen a la curvatura de esos brotes, y también ayudan a clasificar las proteínas.

Paso 3: El **brote se separa**, completando la formación de la vesícula recubierta. La curvatura de la membrana ER y las interacciones proteína-proteína y proteína-lípido en el brote facilitan la separación de sitios ER de salida. Las vesículas se mueven a través de las células a lo largo de los microtúbulos, o a lo largo de los filamentos de actina.

Paso 4: La disociación del recubrimiento, (que implica la disociación de la Sar1 y de la cubierta de las proteínas recubiertas) sigue a la hidrólisis del GTP unido al GDP por la Sar1, promovido por una proteína específica del recubrimiento. De aquí que la Sar1 desempeña un papel clave, tanto en el ensamblaje como en la disociación de las proteínas del recubrimiento. Es necesario eliminar el recubrimiento para que ocurra la fusión.

Paso 5: La direccionalidad de las vesículas se logra mediante la unión de estas a las moléculas **Rab**. Las Rabs son una familia de proteínas similares a las Ras, necesarias en varios pasos del transporte de proteínas intracelulares, y también en la secreción regulada y la endocitosis. Son pequeñas **GTPasas monoméricas** que se unen a las caras citosólicas de las vesículas que están brotando en el **estado unido a GTP**, y también están presentes en las membranas aceptoras. Las moléculas Rab.GDP en el citosol se cambian a moléculas de Rab.GTP por un GEF específico (cuadro 49-9). Las **proteínas efectoras Rab** en las membranas aceptoras se unen a la

Rab.GTP, pero no a las moléculas Rab.GDP, **anclando** así las vesículas a las membranas.

Paso 6: Las v-SNARE se emparejan con las t-SNAREs afines en la membrana objetivo, para acoplar las vesículas e iniciar la fusión. En general, una v-SNARE en la vesícula se empareja con tres t-SNARE en la membrana del aceptor, para formar un apretado **paquete de cuatro hélices**. En las **vesículas sinápticas**, una v-SNARE se denomina **sinaptobrevina**. La **toxina B botulínica**, una de las más letales conocida, y la más grave de las intoxicaciones alimentarias, contiene una **proteasa** que se une a la **sinaptobrevina**, así **inhibiendo la liberación de acetilcolina** en la unión neuromuscular, lo que a menudo resulta fatal.

Paso 7: La **fusión** de la vesícula con la membrana receptora se produce una vez que las v- y t-SNARE están estrechamente alineadas. Después de la fusión de las vesículas y la liberación de los contenidos, el GTP se hidroliza a GDP, y las moléculas de Rab.GDP se liberan en el citosol. Cuando una SNARE en una membrana interactúa con otra SNARE en otra membrana, y ambas se unen, el resultado se conoce como un **complejo trans-SNARE** o un **pin SNARE**. Las interacciones entre SNARE en la misma membrana forman un **complejo cis-SNARE**. Para disociar el paquete de cuatro hélices entre las v- y t-SNARE de forma que se puedan reutilizar, se requieren dos proteínas adicionales. Estas son una **ATPasa** (NSF) y una **a-SNAP** (cuadro 49-9). La NSF hidroliza el ATP, y la energía liberada disocia el paquete de cuatro hélices, haciendo que las proteínas SNARE estén disponibles para otra ronda de fusión de membranas.

Paso 8: Ciertos componentes, como las proteínas Rab y SNARE, se **reciclan** para rondas posteriores de fusión de vesículas.

Durante el ciclo anterior, las SNARE, las proteínas de anclaje, la Rab, y otras proteínas, colaboran para liberar una vesícula y su contenido en el sitio apropiado.

Algunas vesículas de transporte viajan a través de la red *trans*-Golgi

Las proteínas que se encuentran en el área **apical** o **basolateral** de las membranas plasmáticas de las células epiteliales polarizadas pueden ser transportadas a estos sitios de varias maneras; en **vesículas de transporte** que brotan de la **red *trans*-Golgi**, con diferentes proteínas Rab que dirigen algunas vesículas a las regiones apicales y otras a las regiones basolaterales; vía direccionamiento inicial a la membrana basolateral, seguida por endocitosis y transporte a través de la célula por **transcitosis** a la región apical; o a través de un proceso que involucre el **ancla de glucosilfosfatidilinositol** (GPI), descrito en el capítulo 46. Esta estructura también está presente a menudo en las **balsas de lípidos** (ver capítulo 40).

Una vez que las proteínas en la vía secretora alcanzan el *cis*-Golgi desde el ER, pueden ser retenidas en las vesículas para viajar a través del GA hasta el *trans*-Golgi, o pueden cruzar mediante un proceso llamado **maduración cisternal**, en el cual las **cisternae** (**los discos de membrana aplanada de GA que brotan del ER**) se mueven y se transforman unos en otros, o quizás en algunos casos por **difusión** a través de conexiones intracisternales. En este modelo, los elementos vesiculares del ER se fusionan entre sí para ayudar a formar el *cis*-Golgi, que a su vez puede avanzar hacia el *trans*-Golgi. Las vesículas COPI devuelven las enzimas de Golgi (p. ej., glucosiltransferasas) de las (*trans*-) cisternae distales del GA a las (*cis*) cisternae más proximales.

El brefeldin inhibe la formación de vesículas COPI

El metabolito fúngico **brefeldin A inhibe la formación de vesículas COPI evitando que el GTP se una a la ARF**. En su presencia el aparato de Golgi parece **colapsar en el ER**. El Brefeldin A ha demostrado ser una herramienta útil para examinar algunos aspectos de la estructura y función del Golgi.

Algunas proteínas se someten a un procesamiento adicional mientras están en las vesículas

Algunas proteínas se someten a un procesamiento posterior por proteólisis mientras están dentro de las vesículas de transporte o de las secretoras. Por ejemplo, la **albúmina** es sintetizada por los hepatocitos como **preproalbúmina** (ver capítulo 52). Su péptido de señal se elimina, convirtiéndolo en **proalbúmina**. A su vez, la proalbúmina, mientras está dentro de las vesículas secretoras, se convierte en **albúmina** por acción de la **furina** (figura 49-12). Esta enzima divide de inmediato un hexapéptido de proalbúmina C-terminal a un sitio dibásico de aminoácido (ArgArg). La albúmina madura resultante se secreta en el plasma. Las hormonas como la **insulina** (ver capítulo 41) quedan sometidas a divisiones proteolíticas similares mientras están dentro de las vesículas secretoras.

EL ENSAMBLAJE DE MEMBRANAS ES COMPLEJO

Hay varios tipos diferentes de membranas celulares, que van desde la membrana plasmática que separa los contenidos celulares del ambiente externo, hasta las membranas internas de los organelos subcelulares, como las mitocondrias y el ER. Aunque la estructura

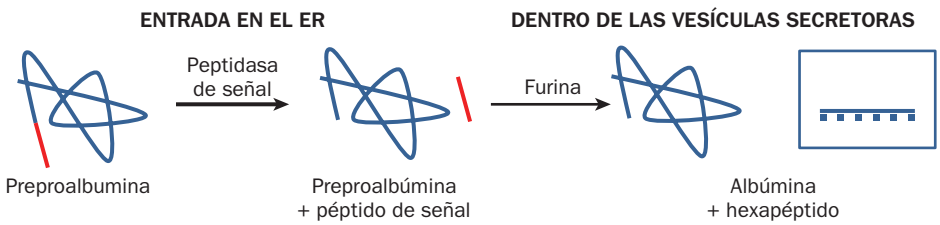


FIGURA 49-12 **Procesamiento de la albúmina preproalbúmina.** El péptido de señal se elimina de la preproalbúmina a medida que se mueve al ER. La furina escinde la proalbúmina en el extremo C-terminal de un dipéptido básico (ArgArg) mientras la proteína está dentro de la vesícula secretora. La albúmina madura se secreta en el plasma.

general de la bicapa lipídica es similar en todas las membranas, ellas difieren en su contenido específico de proteínas y lípidos, y cada tipo tiene sus propias características específicas (ver capítulo 40). En la actualidad no se dispone de algún esquema satisfactorio que describa el ensamblaje de cualquiera de estas membranas. El transporte vesicular y la forma en que diversas proteínas se insertan al inicio en la membrana del ER se ha discutido anteriormente. Algunos puntos generales sobre el ensamblaje de la membrana se tratan a continuación.

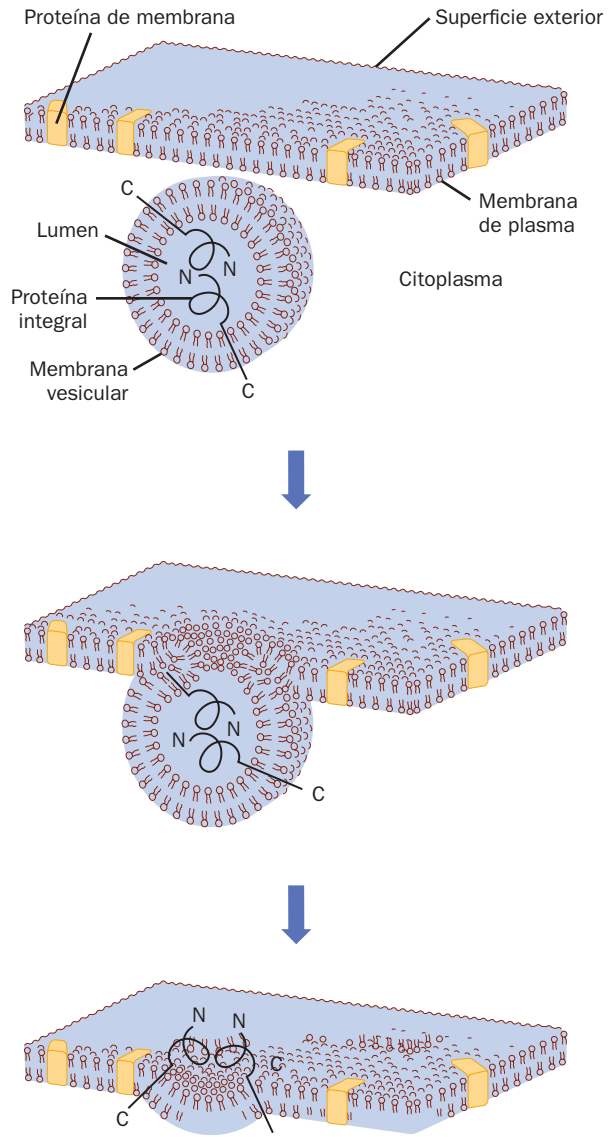


FIGURA 49-13 La fusión de una vesícula con la membrana plasmática conserva la orientación de cualquier proteína integral insertada en la bicapa vesicular. Al inicio el extremo amino de la proteína está de cara al lumen –o cavidad interna– de dicha vesícula. Después de la fusión, el terminal amino está en la superficie exterior de la membrana plasmática. El lumen de una vesícula y el exterior de la célula son topológicamente equivalentes. (Redibujado y modificado, con permiso, de Lodish HF, Rothman JE: The assembly of cell membranes. Sci Am [Jan] 1979;240:43).

La asimetría de proteínas y lípidos se mantiene durante el ensamblaje de la membrana

Las vesículas formadas a partir de las membranas del ER y el aparato de Golgi, ya sea de forma natural o desprendida por homogeneización, presentan **asimetrías transversales**, tanto de lípidos como de proteínas. Estas **asimetrías se mantienen** durante la fusión de las vesículas de transporte con la membrana plasmática. El **interior** de las vesículas después de la fusión se convierte en el **exterior de la membrana plasmática**, y el lado citoplásmico de las vesículas permanece como el lado citoplásmico de la membrana (figura 49-13). Las enzimas responsables de la síntesis de fosfolípidos, la clase principal de lípidos en las membranas (véase el capítulo 40), residen en la superficie citoplásmica de las cisternae (las estructuras similares a sacos) del ER. Los fosfolípidos se sintetizan en ese sitio, y se cree que se autoensamblan en capas bimoleculares termodinámicamente estables, expandiendo así la membrana y tal vez promoviendo el desprendimiento de esta de las llamadas **vesículas lipídicas**. Se ha propuesto que estas vesículas viajen a otros sitios, donando sus lípidos a otras membranas. Las **proteínas de intercambio de fosfolípidos** son proteínas citosólicas que absorben los fosfolípidos de una membrana y los liberan a otra. Se cree que desempeñan un papel en la regulación de la composición lipídica específica de diversas membranas.

Se debe notar que las **composiciones lipídicas** del ER, del aparato de Golgi y de la membrana plasmática difieren, y que las últimas dos membranas contienen **cantidades mayores de colesterol, esfingomielina y glucoesfingolípidos**, y **menos fosfoglicéridos** que el ER. Los esfingolípidos se empaquetan más densamente que los fosfoglicéridos en las membranas. Estas diferencias afectan las estructuras y funciones de las mismas. Por ejemplo, el **grosor de la bicapa** del GA y la PM es mayor que el del ER, lo que afecta cuales proteínas transmembrana particulares se encuentran en estos organelos. Además, se cree que las **balsas lipídicas** (ver capítulo 40) se forman en el GA.

Los lípidos y las proteínas experimentan renovación a diferentes velocidades en diferentes membranas

Se ha demostrado que las semividas de los lípidos de las membranas ER son generalmente más cortas que las de sus proteínas, por lo que **las velocidades de renovación de lípidos y proteínas son independientes**. De hecho, se ha encontrado que diferentes lípidos tienen vidas medias diferentes. Además, las semividas de las proteínas de estas membranas varían ampliamente, algunas exhiben vidas medias cortas (horas) y otras largas (días). Por tanto, los lípidos y las proteínas individuales de las membranas ER parecen insertarse en ellas con relativa independencia, y se cree que este es el caso de muchas otras membranas.

La biogénesis de las membranas es así un proceso complejo, sobre el cual queda mucho por aprender. Una indicación de la complejidad involucrada es considerar el número de **modificaciones postranslacionales** a las que las proteínas de membrana pueden estar sujetas antes de alcanzar su estado maduro. Estas pueden incluir la formación de disulfuro, proteólisis, ensamblaje en múltiples reacciones, glucosilación, adición de un ancla de glucofosfatidilinositol (GPI), sulfatación en restos de tirosina o carbohidrato, fosforilación, acilación y prenilación. No obstante, se ha logrado un progreso significativo; el cuadro 49-10 resume algunas de las principales

CUADRO 49-10 Algunas características principales del ensamblaje de membrana

- Los lípidos y las proteínas se insertan de forma independiente en las membranas.
- Los lípidos y las proteínas de membranas individuales se transfieren de forma independiente y a diferentes velocidades.
- Las secuencias topogénicas (por ejemplo, la señal —amino terminal o interna— y la transferencia-parada) son importantes para determinar la inserción y eliminación de proteínas en las membranas.
- Las proteínas de membrana dentro de las vesículas de transporte brotan del retículo endoplásmico en su camino hacia el aparato de Golgi; la clasificación final de muchas proteínas de membrana ocurre en la red *trans*-Golgi.
- Secuencias específicas de clasificación guían las proteínas a organelos particulares como los lisosomas, los peroxisomas, y las mitocondrias.

características del ensamblaje de membranas que han surgido hasta la fecha.

Diversos trastornos resultan de mutaciones en genes que codifican proteínas involucradas en el transporte intracelular

Algunos trastornos que reflejan la función **peroxisomal** anormal y las anomalías de la síntesis de proteínas en el **ER,** y de la síntesis de **proteínas lisosómicas**, se han enumerado anteriormente en este capítulo (véanse los cuadros 49-4 y 49-7, respectivamente). Se han informado muchas otras mutaciones que afectan el plegamiento de proteínas y su transporte intracelular a diversos organelos, que incluyen trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington y la enfermedad de Parkinson. Esclarecer las causas de estos diversos **trastornos conformacionales** ha contribuido significativamente a nuestra comprensión de la **patología molecular**. El término "**enfermedades de deficiencia de proteostasis**" también se ha aplicado a enfermedades ocasionadas por el plegamiento incorrecto de proteínas. Proteostasis es una palabra compuesta derivada de la homeostasis de proteínas. La proteostasis normal se debe a un equilibrio de muchos factores como la síntesis, el plegamiento, el tráfico, la agregación y la degradación normal. Si alguno de estos factores se altera (p. ej., por mutación, envejecimiento, estrés celular, o lesión) se pueden producir diversos trastornos, dependiendo de las proteínas particulares involucradas.

Las terapias potenciales para las diversas enfermedades causadas por la disfunción de proteínas debido al mal plegamiento apuntan a corregir los errores de conformación. Un enfoque prometedor es emplear chaperonas como la Hsp70 para promover el plegamiento adecuado. Además, se ha demostrado que la **geldanamicina** antibiótica activa las proteínas de choque térmico. También se ha demostrado que moléculas pequeñas de fármacos que actúan como chaperonas químicas evitan el mal plegamiento y restauran la función proteica. Estos enfoques, sin embargo, hasta ahora sólo se han probado en experimentos con animales y en sistemas *in vitro*, y su efectividad en humanos aún está por establecer.

RESUMEN

- Muchas proteínas son direccionadas a sus destinos mediante secuencias de señal. Se realiza una importante decisión de clasificación cuando las proteínas se reparten entre polirribosomas citosólicos (o libres) y ligados a membrana, en virtud de la ausencia o presencia de un péptido de señal *N*-terminal.
- Las proteínas sintetizadas en polirribosomas citosólicos son direccionadas por secuencias específicas de señales hacia las mitocondrias, núcleos, peroxisomas y el ER. Las proteínas que carecen de señal permanecen en el citosol.
- Las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a la membrana entran inicialmente en la membrana o el lumen del ER, y muchas se destinan en última instancia a otras membranas –incluida la PM y la del GA–, a los lisosomas, y a la secreción por exocitosis.
- Muchas reacciones de glucosilación se producen en compartimientos del aparato de Golgi, y las proteínas se clasifican adicionalmente en la red *trans*-Golgi.
- Las chaperonas moleculares estabilizan las proteínas desplegadas o parcialmente plegadas. Las chaperonas son necesarias para direccionar correctamente las proteínas a sus ubicaciones subcelulares.
- En la translocación postranslacional, las proteínas se transportan a su organelo objetivo después de que se completa su síntesis. Las proteínas destinadas a las mitocondrias, el núcleo y los peroxisomas siguen esta ruta, así como a una minoría de proteínas direccionadas al ER.
- La mayoría de las proteínas ingresan al lumen de ER por la vía cotranslacional, donde se produce la translocación durante la síntesis progresiva de las proteínas.
- Las proteínas integradas en la membrana ER se pueden insertar cotranslacionalmente, postranslacionalmente, o después de su transporte al GA (transporte anterógrado), por retención transitoria, y mediante retorno al ER (transporte retrógrado).
- La acumulación dañina de proteínas mal plegadas desencadena la respuesta de proteína desplegada, las cuales se degradan a través de la vía ERAD. Las proteínas se marcan para la degradación mediante la adición de una serie de moléculas de ubiquitina, y luego entran en el citosol donde se descomponen en proteosomas.
- Diferentes tipos de vesículas de transporte están recubiertas con diferentes proteínas. Las vesículas recubiertas de clatrina están destinadas a exocitosis y lisosomas, mientras que las proteínas de cubierta I y II están asociadas con las vesículas COPI y COPII, responsables del transporte retrógrado y anterógrado, respectivamente.
- El procesamiento de las vesículas de transporte es complejo y requiere muchos factores proteicos. La formación de brotes desde la membrana donante es seguido por el movimiento a través del citosol, el anclaje, el acoplamiento y la fusión con la membrana objetivo.
- Ciertas proteínas (p. ej., las precursoras de albúmina e insulina) se someten a proteólisis mientras están dentro de las vesículas de transporte, produciendo las proteínas maduras.
- Las pequeñas GTPasas (p. ej., Ran, Rab) y los GEF desempeñan papeles clave en muchos aspectos del tráfico intracelular.
- Las vesículas formadas a partir de las membranas del ER y el aparato de Golgi son asimétricas, tanto en el contenido de lípidos como en el de proteínas. La asimetría se mantiene durante el ensamblaje y durante la fusión de las vesículas de transporte con la membrana plasmática, de modo que el interior de las vesículas después de la fusión se convierte en el exterior de la membrana plasmática, y el lado citoplásmico de las vesículas queda de frente al citosol.

- Los lípidos y las proteínas se insertan de forma independiente y se transfieren a velocidades diferentes. Los detalles exactos del proceso de ensamblaje aún no se han establecido.
- Se ha demostrado que muchos trastornos se deben a mutaciones en genes u otros factores que afectan el plegamiento de varias proteínas. Estas condiciones se han denominado enfermedades conformacionales, o en forma alternativa, enfermedades de deficiencia proteostática. Los abordajes terapéuticos prometedores incluyen el uso de chaperonas como la Hsp70, y moléculas pequeñas que pueden evitar el mal plegamiento y restaurar la función proteica.

REFERENCIAS

Alberts B, Johnson A, Lewis J, *et al*: *Molecular Biology of the Cell*, 6th ed. Garland Science, 2014. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafcking and sorting).

Cooper GM, Hausman RE: *Te Cell: A Molecular Approach*, 7th ed. Palgrave, 2015. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafcking and sorting).

Hebert DN, Molinari M: In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation and related human diseases. Physiol Rev 2007;87:1377.

CAPÍTULO

50

La matriz extracelular

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Indicar la importancia de la matriz extracelular (ECM) y sus componentes en la salud y la enfermedad.
- Describir las propiedades estructurales y funcionales del colágeno y la elastina, las principales proteínas de la ECM.
- Indicar las principales características de la fibrilina, fibronectina y laminina, otras proteínas importantes de la ECM.
- Describir las propiedades y características generales de la síntesis y degradación de los glicosaminoglucuronanos y proteoglicanos, y sus contribuciones a la ECM.
- Hacer una breve descripción de las principales características bioquímicas del hueso y el cartílago.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La mayoría de las células de los mamíferos se encuentran en tejidos rodeados por una compleja **matriz extracelular (ECM)** a menudo denominada "**tejido conjuntivo**", que protege los órganos y también proporciona elasticidad cuando es necesario (p. ej., los vasos sanguíneos, los pulmones y la piel). La ECM contiene tres clases principales de biomoléculas: **proteínas estructurales** (por ejemplo, **colágeno, elastina** y **fibrilina**), ciertas **proteínas especializadas** como fibronectina y laminina, que forman una malla de fibras incrustadas en la tercera clase, los **proteoglicanos**. La ECM está involucrada en muchos procesos, tanto normales como patológicos; por ejemplo, desempeña un papel importante en el desarrollo, en los estados de inflamación, y en la propagación de las células cancerosas. Ciertos componentes de la ECM juegan un papel en la **artritis reumatoide** y la **osteoartritis**. Varias enfermedades (p. ej., osteogénesis imperfecta y varios tipos del síndrome de Ehlers-Danlos) se deben a alteraciones genéticas de la síntesis de colágeno, un componente importante de la ECM. Los componentes específicos de los proteoglicanos (los glicosaminoglucuronanos, GAG) se ven afectados en el grupo de trastornos genéticos conocidos como **mucopolisacaridosis**. Se producen cambios en la ECM durante el **proceso de envejecimiento**. Este capítulo describe la bioquímica básica de las tres clases principales de biomoléculas que se encuentran en la ECM, e ilustra su importancia biomédica. También se consideran brevemente las principales características bioquímicas de las dos formas especializadas de la ECM (hueso y cartílago), y de una serie de enfermedades que las involucran.

EL COLÁGENO ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL MUNDO ANIMAL

El **colágeno**, componente principal de la mayoría de los tejidos conectivos, constituye 25% de la proteína de los mamíferos aproximadamente. Proporciona un marco extracelular para todos los animales metazoos, y existe en casi todos los tejidos animales. Se han identificado al menos 28 tipos de colágeno en los tejidos humanos, formados por más de 30 cadenas polipeptídicas distintas (cada una codificada por un gen separado) (cuadro 50-1). Aunque varios de ellos están presentes sólo en pequeñas proporciones, pueden jugar un papel importante en la determinación de las propiedades físicas de tejidos específicos. Además, cierto número de proteínas que no están clasificadas como colágenos (p. ej., el componente C1q del sistema de complemento, las proteínas surfactantes pulmonares SPA y SPD) tienen dominios de tipo colágeno en sus estructuras; estas proteínas a veces se denominan "colágenos no colágenos".

LOS COLÁGENOS TIENEN UNA ESTRUCTURA DE TRIPLE HÉLICE

Todos los tipos de colágeno tienen una **estructura helicoidal triple** formada por tres subunidades de cadena polipeptídica (**cadenas** α). En algunos colágenos, la molécula completa es una triple hélice, mientras que en otros sólo puede estar en esta forma una fracción

CUADRO 50-1 Tipos de colágeno y su distribución en los tejidos

Tipo	Distribución
I	Tejidos conectivos no cartilaginosos, incluido el hueso, tendón, piel
II	Cartílago, humor vítreo
III	Tejidos conectivos extensibles, que incluyen la piel, pulmón, sistema vascular
IV	Membranas basales
V	Componente menor en tejidos que contienen colágeno I
VI	Músculo y la mayoría de los tejidos conectivos
VII	Unión dérmica-epidérmica
VIII	Endotelio y otros tejidos
IX	Tejidos que contienen colágeno II
X	Cartílago hipertrófico
XI	Tejidos que contienen colágeno II
XII	Tejidos que contienen colágeno I
XIII	Muchos tejidos, incluidas las uniones neuromusculares y la piel
XIV	Tejidos que contienen colágeno I
XV	Asociado con colágenos cerca de las membranas basales en muchos tejidos, incluso en el ojo, músculo, microvasos
XVI	Muchos tejidos
XVII	Epitelio, hemidesmosomas de la piel
XVIII	Asociado con colágenos cerca de las membranas basales, homólogo cercano estructural de XV
XIX	Raro, membranas basales, células de rabdomiosarcoma
XX	Muchos tejidos, particularmente el epitelio corneal
XXI	Muchos tejidos
XXII	Uniones tisulares, que incluyen fluido cartilaginosovial, pelo, folículo-dermis
XXIII	Limitado en tejidos, principalmente en formas transmembrana y muda
XXIV	Desarrollo de córnea y hueso
XXV	Cerebro
XXVI	Testículos, ovario
XXVII	Cartílago embrionario y otros tejidos en desarrollo, cartílago en adultos
XXVIII	Membrana basal alrededor de las células de Schwann

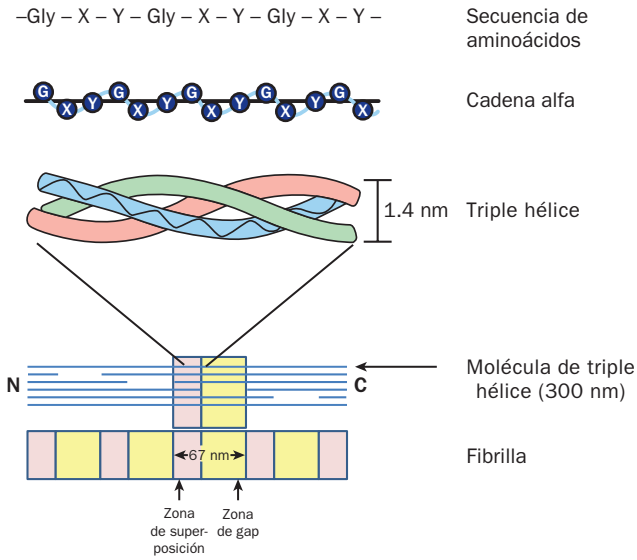


FIGURA 50-1 Características moleculares de la estructura del colágeno desde la secuencia primaria hasta la fibrilla. Cada cadena polipeptídica individual se retuerce en una hélice a la izquierda de tres residuos (Gly-X-Y) por vuelta, y tres de estas cadenas se enrollan luego en una superhélice derecha. Las hélices triples se ensamblan en una alineación alternada cada cuarto de vuelta para formar fibrillas. Esta disposición conduce a áreas donde hay una superposición completa de las moléculas que se alternan con zonas donde hay un espacio, dando a las fibrillas una apariencia de bandas regulares. (Modificado y vuelto a dibujar de Eyre DR: Collagen: molecular diversity in the body's protein scaffold. Science 1980;207:1315. Reprinted with permission from AAAS).

de la estructura. El **colágeno tipo I** maduro pertenece al primer grupo; cada subunidad polipeptídica se retuerce en una hélice de poliprolina izquierda con tres residuos por vuelta, formando una cadena α. Tres de estos se envuelven en **una triple a la derecha** o superhélice, formando una molécula en forma de barra de 1.4 nm de diámetro y unos 300 nm de longitud (figura 50-1). Residuos de **glicina** aparecen en cada tercera posición de la porción triple helicoidal de la cadena α. Esto es necesario porque la glicina es el único aminoácido bastante pequeño como para acomodarse en el espacio limitado disponible en el núcleo central de la triple hélice. Esta **estructura repetitiva**, representada como (Gly-X-Y)*n*, es un requisito absoluto para la formación de la triple hélice. Mientras que X e Y pueden ser cualquier otro aminoácido, las posiciones X a menudo son prolina, y las posiciones Y, hidroxiprolina. La prolina y la hidroxiprolina confieren **rigidez** a la molécula de colágeno. La **hidroxiprolina** se forma por la hidroxilación postranslacional de restos de prolina, unidos a péptidos catalizados por la enzima **prolil hidroxilasa**, cuyos cofactores son el ácido ascórbico (vitamina C) y el α-cetoglutarato. Las lisinas en la posición Y también se pueden modificar postranslacionalmente a hidroxilisina mediante la acción de la **lisil hidroxilasa**, una enzima con cofactores similares. Algunas de estas hidroxilisinas se pueden modificar adicionalmente mediante la adición de galactosa, o galactosil-glucosa, a través de un **enlace *O*-glucosídico** (véase el capítulo 46), un sitio de glucosilación que es exclusivo del colágeno.

Algunos tipos de colágeno forman largas fibras tipo varilla en los tejidos. Estos se ensamblan por asociación lateral de las unidades de triple hélice en **fibrillas** (10-300 nm de diámetro) en una **alineación "alterna por cuartos"**, de modo que cada una está desplazada longitudinalmente de su vecina en poco menos de un cuarto de su longitud (figura 50- 1). A su vez, las fibrillas se asocian a **fibras** más **gruesas** (1-20 μm de diámetro). Debido a que la alinea-

ción escalonada en cuartos produce gaps espaciados regularmente entre las moléculas de triple hélice en el arreglo, las fibras tienen una apariencia de bandas en los tejidos conectivos. En algunos tejidos como por ejemplo, los tendones, las fibras se asocian en haces aún más grandes, que pueden tener un diámetro de hasta 500 µm. Las fibras de colágeno se estabilizan adicionalmente mediante la formación de **enlaces cruzados covalentes**, tanto dentro como entre las unidades de triple hélice. Estos enlaces cruzados se forman a través de la acción de la **lisil oxidasa**, una enzima cobre-dependiente que desamina en forma oxidativa los grupos ε-amino de ciertos residuos de lisina e hidroxilisina, produciendo aldehídos reactivos. Tales aldehídos pueden formar productos de condensación aldólica con otros aldehídos derivados de lisina o hidroxilisina, o formar bases de Schiff con los grupos ε-amino de lisinas o hidroxilisinas no oxidadas. Estas reacciones, después de posteriores reordenamientos químicos, dan como resultado los enlaces cruzados covalentes estables, importantes para la resistencia a la tracción de las fibras. La histidina también puede estar involucrada en ciertos enlaces cruzados.

Los principales colágenos formadores de fibrillas en la piel y los huesos, y en el cartílago, respectivamente, son los tipos **I** y **II**, aunque otros colágenos también adoptan esta estructura. No obstante, hay muchos colágenos que no forman fibrillas, y sus estructuras y funciones se describen brevemente en la sección siguiente.

Algunos tipos de colágeno no forman fibrillas

Varios tipos de colágeno no forman fibrillas en los tejidos (figura 50-2). Se caracterizan por interrupciones de la triple hélice con tramos de proteína que carecen de secuencias de repetición Gly-X-Y. Por tanto, hay áreas de estructura globular intercaladas en la estructura de la triple hélice. Los **colágenos de tipo red** como el tipo IV forman redes en las membranas basales; los **colágenos asociados a fibrillas con triples hélices interrumpidas (FACIT)**, como su nombre indica, tienen interrupciones en los dominios de triple hélice; los **filamentos con cuentas** consisten en largas cadenas de moléculas de colágeno que tienen una apariencia de cuentas regulares; el colágeno VII forma la parte principal de las **fibrillas de anclaje** en los tejidos epiteliales; los **colágenos transmembrana** tienen dominios N-terminales intracelulares cortos y dominios extracelulares con largas triples hélices interrumpidas; las **multiplexinas** son colágenos con múltiples dominios de triple hélice e interrupciones.

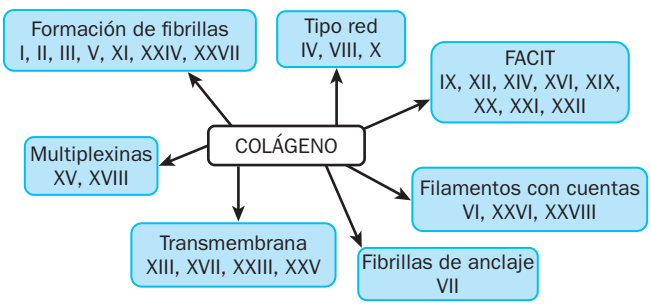


FIGURA 50-2 Clasificación de los colágenos según las estructuras que forman. FACIT, colágeno asociado a fibrillas con hélices triples interrumpidas; multiplexina, múltiples dominios de triple hélice e interrupciones.

El colágeno se somete a extensas modificaciones postraslacionales

El colágeno recientemente sintetizado sufre una extensa **modificación postranslacional** antes de formar parte de una fibra de colágeno extracelular madura (cuadro 50-2). Al igual que la mayoría de las proteínas secretadas, el colágeno se sintetiza en los ribosomas en forma precursora, **preprocolágeno**, que contiene una secuencia líder o señal que dirige la cadena polipeptídica hacia el lumen del retículo endoplasmático (ER) (véase el capítulo 49). A medida que ingresa al ER, esta secuencia líder se elimina enzimáticamente. La **hidroxilación** de residuos de prolina y lisina, y la **glucosilación** de hidroxilisinas en la molécula de **procolágeno**, también tienen lugar en este sitio. La molécula de procolágeno contiene extensiones polipeptídicas (**péptidos de extensión**) de 20 a 35 kDa en sus extremos amino- y carboxi-terminal, no presentes en el colágeno maduro. Ambos péptidos de extensión contienen residuos de cisteína. Mientras que el propéptido amino terminal forma solamente enlaces disulfuro intracatenarios, los propéptidos carboxi-terminales forman enlaces disulfuro, tanto intracadena como intercadena. La formación de estos enlaces disulfuro ayuda al **registro** de las tres moléculas de colágeno para formar la triple hélice, que se enrolla desde el extremo carboxi-terminal. Después de la formación de la triple hélice, ya no puede tener lugar la posterior hidroxilación de prolina o lisina, o la glucosilación de hidroxilisinas. El **autoensamblaje** es un principio cardinal en la biosíntesis del colágeno.

Después de la **secreción** de la célula por el aparato de Golgi, las enzimas extracelulares llamadas **procolágeno aminoproteinasa** y **procolágeno carboxiproteinasa** eliminan los péptidos de extensión en los extremos amino- y carboxi-terminal respectivamente, formando las unidades monoméricas de colágeno, denominadas **tropocolágeno**. La división de los propéptidos puede ocurrir dentro de criptas o pliegues en la membrana celular. Una vez que se eliminan los propéptidos, las moléculas de tropocolágeno, que contienen aproximadamente 1 000 aminoácidos por cadena a, se **ensamblan espontáneamente** en fibras de colágeno. Estas se estabilizan adicionalmente mediante la formación de **enlaces cruzados inter e intracadena** a través de la acción de la lisil oxidasa, como se describió previamente.

CUADRO 50-2 Orden y ubicación del procesamiento del precursor de colágeno fibrilar

Intracelular

1. División del péptido de señal
2. Hidroxilación de residuos de prolilo y algunos residuos de lisilo; glucosilación de algunos residuos de hidroxialilo
3. Formación de enlaces S-S intracatenarios e intercatenarios en los péptidos de extensión
4. Formación de la triple hélice

Extracelular

1. Escisión de los propéptidos amino- y carboxi-terminal
2. Montaje de fibras de colágeno en alineación escalonada
3. Desaminación oxidativa de grupos η-amino de lisilo y residuos de hidroxialilo en aldehídos
4. Formación de enlaces transversales intra e intercadena a través de bases Schiff y productos de condensación aldol

Las mismas células que secretan colágeno también secretan **fibronectina**, una gran glucoproteína presente en las superficies celulares, en la matriz extracelular y en la sangre (ver a continuación). La fibronectina se une a las fibras de colágeno durante la agregación y altera la cinética de la formación de fibra en la matriz pericelular. Asociados con la fibronectina y el procolágeno, en esta matriz están los **proteoglicanos**, heparán sulfato y condroitín sulfato (ver a continuación). De hecho, el **colágeno tipo IX**, un colágeno del cartílago de clase menor, contiene una cadena de glicosaminoglucuronanos unida. Tales interacciones pueden servir para regular la formación de fibras de colágeno y determinar su orientación en los tejidos.

Una vez formado, el colágeno es más **estable metabólicamente**. Sin embargo, su descomposición aumenta durante la inanición y diversos estados inflamatorios. La producción excesiva de colágeno ocurre en una serie de condiciones, por ejemplo, en la cirrosis hepática.

Cierto número de enfermedades genéticas y de deficiencia resultan de anormalidades en la síntesis del colágeno

Más de 30 genes codifican los colágenos, y se designan de acuerdo con el tipo de procolágeno y sus cadenas α constituyentes, llamadas cadenas proα. Los colágenos pueden ser homotriméricos, con tres cadenas proα idénticas, o heterotriméricos, donde las cadenas proα son diferentes. Por ejemplo, el colágeno tipo I es heterotrimérico y contiene dos cadenas proα1(I) y una proα2(I) (el número arábigo se refiere a la cadena proα y el número romano entre paréntesis indica el tipo de colágeno), mientras que el colágeno tipo II es homotrimérico, con tres cadenas proα1(II). Los genes de colágeno tienen el prefijo *COL* seguido del tipo en números arábigos, luego una A y el número de la cadena proα que codifican. Así, *COL1A1* y *COL1A2* son los genes de las cadenas proα1 y 2 del colágeno tipo I, *COL2A1* es el gen de la cadena proα1 del colágeno tipo II, y así sucesivamente.

La vía de la biosíntesis de colágeno es compleja, y comprende al menos ocho pasos postranslacionales catalizados por enzimas. Por tanto, no es sorprendente que una serie de enfermedades (cuadro 50-3) se deban a **mutaciones en genes de colágeno**, o en **genes que codifican algunas de las enzimas** involucradas en estas modificaciones postranslacionales. Las enfermedades que afectan al hueso (p. ej., la osteogénesis imperfecta) y al cartílago (p. ej., las condrodisplasias) se analizarán más adelante en este capítulo.

El **síndrome de Ehlers-Danlos** (anteriormente llamado Cutis hiperelástica) comprende un grupo de trastornos hereditarios cuyas características clínicas principales son la hiperextensibilidad de la piel, la fragilidad tisular anormal y el aumento de la movilidad articular. El cuadro clínico es variable, lo que refleja una extensa heterogeneidad genética subyacente. Se conocen varias formas de la enfermedad causada por defectos genéticos en las proteínas involucradas en la síntesis y ensamblaje de colágenos tipo I, III y V, y desde 1997 se ha utilizado la clasificación de Villefranche de seis subtipos en función de su fenotipo y defectos moleculares (cuadro 50-4). La **hipermovilidad, subtipos vascular y clásica** son más comunes, mientras que las otras tres, **cifoescoliosis**, **artrocalasia,** y **dermatosparaxis**, son extremadamente raras. El subtipo vascular es el más grave debido a su tendencia a la rotura espontánea de las arterias o el intestino, lo que refleja anormalidades en el colágeno tipo III. Los pacientes con cifoescoliosis exhiben una curvatura progresiva de la columna (escoliosis) y una tendencia a la ruptura ocular debido a una deficiencia de lisil hidroxilasa. Una deficiencia del procolágeno *N*-proteinasa (ADAM metalopeptidasa con trombospondina tipo 1 motivo [*ADAMTS2*]), que causa la formación de fibrillas anormales finas e irregulares de colágeno y produce dermatosparaxis, que se manifiesta por una piel marcada y frágil y flácida.

El **síndrome de Alport** (nefritis hereditaria) es el nombre que se le da a varios trastornos genéticos (tanto vinculados a X como autosómicos) que afectan al colágeno **tipo IV**, un colágeno en forma de red que es parte de la estructura de las membranas basales de los glomérulos renales, oído interno y ojo (vea la discusión de la laminina, más abajo). Se han demostrado mutaciones en varios genes que codifican fibras de colágeno tipo IV.

En la **epidermólisis bullosa**, la piel se rompe y ampolla como resultado de un trauma menor. La forma distrófica de la enfermedad se debe a mutaciones en el *COL7A1*, que afectan la estructura del colágeno **tipo VII**. Este colágeno forma fibrillas delicadas que anclan la lámina basal a las fibrillas de colágeno en la dermis. Se ha

CUADRO 50-3 Enfermedades causadas por mutaciones en los genes de colágeno o por deficiencias en las actividades de las enzimas involucradas en la biosíntesis postranslacional del colágeno

Gene o enzima afectada	Enfermedad[a]
COL1A1, COL1A2	Osteogénesis imperfecta tipo 1[b] Osteoporosis Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo artrocalasia
COL2A1	Condrodisplasia severa Osteoartritis
COL3A1	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo vascular
COL4A3-COL4A6	Síndrome de Alport (autosómico y X-ligado)
COL7A1	Epidermolisis bullosa, distrófica
COL10A1	Condrodisplasia metafisaria de Schmid
COL5A1, COL5A2, COL1A1	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo clásico
COL3A1, tenascin XB (*TNXB*)	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo hipermovilidad
Lisil hidroxilasa	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo cifoescoliosis
ADAM metalopeptidasa con trombospondina motivo tipo 1 (*ADAMTS2*) (también llamado procolágeno *N*-proteinasa)	Síndrome de Ehlers-Danlos, subtipo dermatosparaxis
Lisil oxidasa	Enfermedad de Menkes[c]

[a] En algunas otras condiciones no listadas aquí se ha encontrado un enlace genético a los genes de colágeno.
[b] Se reconocen ocho tipos diferentes de osteogénesis imperfecta, pero la mayoría de los casos son causados por mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*.
[c] Secundario a una deficiencia de cobre (ver capítulo 52).

CUADRO 50-4 Clasificación de Villefranche[a] de los subtipos del síndrome de Ehlers-Danlos

Nombre del subtipo	Defecto en	Incidencia	Señales clínicas
Hipermovilidad	Colágeno tipo III, tenascina X[b]	1:10 000-15 000	Hipermovilidad articular, anormalidades de la piel, osteoartritis, dolor severo
Clásico	Colágeno tipos I y V	1:20 000-30 000	Similar al subtipo de hipermovilidad, pero con anomalías más severas en la piel y cambios articulares menos severos
Vascular	Colágeno tipo III	1:100 000	Vasos sanguíneos y órganos frágiles, estatura pequeña, piel delgada y translúcida, facilidad de moretones
Cifoscoliosis	Lisil hidroxilasa	<60 casos	Curvatura de la columna vertebral (escoliosis), debilidad muscular severa, ojos frágiles, piel hiperextensible y fácil de lastimar
Artroqueralasia	Colágeno tipo I	<40 casos	Articulaciones muy flojas y dislocación de ambas caderas
Dermatosparaxis	ADAM metalopeptidasa con trombospondina motivo tipo 1 (ADAMTS2)[c]	<10 casos	Piel muy frágil y flácida

[a] Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, *et al*: Ehlers-Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, Ehlers-Danlos National Foundation (USA) and Ehlers-Danlos Support Group (UK). Am J Med Genet 1998;64:31-37.
[b] Una glucoproteína expresada en los tejidos conectivos como la piel, las articulaciones y los músculos.
[c] También se llama procolágeno *N*-proteinasa.

demostrado que estas fibrillas de anclaje se reducen notablemente en la epidermólisis ampollosa distrófica, lo que probablemente provoca ampollas. La epidermólisis bullosa simplex, otra variante, se debe a mutaciones en la queratina 5 (capítulo 51).

Aunque el **escorbuto** afecta la estructura del colágeno, es causado por una **deficiencia dietética del ácido ascórbico** (vitamina C) (ver capítulo 44), no por una anomalía genética. Sus principales signos son el sangrado de las encías, las hemorragias subcutáneas y la mala cicatrización de las heridas. Estos signos reflejan una síntesis defectuosa de colágeno, debido a la actividad reducida de las enzimas **prolil y lisil hidroxilasas**; ambas requieren ácido ascórbico como cofactor, y están involucradas en modificaciones postranslacionales que dan rigidez a las moléculas de colágeno.

En la **enfermedad de Menkes**, la deficiencia de cobre produce un entrecruzamiento defectuoso del colágeno y la elastina por la enzima lisil oxidasa cobre-dependiente. (La enfermedad de Menkes se trata en el capítulo 52).

LA ELASTINA CONFIERE EXTENSIBILIDAD Y RECUPERACIÓN EN LOS PULMONES, VASOS SANGUÍNEOS Y LIGAMENTOS

La **elastina** es una proteína del tejido conjuntivo responsable de las propiedades de extensibilidad y la recuperación elástica de los tejidos. Aunque no está tan extendida como el colágeno, la elastina está presente en grandes cantidades en los tejidos que requieren estas propiedades físicas; por ejemplo, el pulmón, los grandes vasos sanguíneos arteriales y algunos ligamentos elásticos. Cantidades más pequeñas de elastina también se encuentran en la piel, el cartílago de la oreja y otros tejidos. A diferencia del colágeno, sólo se conoce un tipo genético de elastina, aunque surgen variantes por inserciones alternativas del hnRNA de la elastina (ver capítulo 36). La elastina se sintetiza como un monómero soluble de ~70 kDa llamado **tropoelastina**. Algunas de las prolinas de tropoelastina se hidroxilan a **hidroxiprolina** por la prolil hidroxilasa, aunque no están presentes la hidroxilisina ni la hidroxilisina glucosilada. A diferencia del colágeno, la tropoelastina no se sintetiza en una proforma con péptidos de extensión. Además, la elastina no contiene secuencias repetidas de Gly-X-Y, estructura de triple hélice, o restos de hidratos de carbono.

Después de la secreción desde la célula, ciertos residuos de lisilo de la tropoelastina se desaminan oxidativamente en aldehídos por la **lisil oxidasa**, la misma enzima que interviene en este proceso en el colágeno. Sin embargo, los principales enlaces cruzados formados en la elastina son las **desmosinas**, que resultan de la condensación de tres de estos aldehídos derivados de la lisina con una lisina no modificada, para formar un enlace cruzado tetrafuncional exclusivo de la elastina. Una vez reticulada en su forma madura y extracelular la elastina es altamente insoluble, **extremadamente estable**, y tiene una velocidad de regresión muy baja. Las diversas conformaciones de espiral al azar presentes en su estructura permiten que la proteína se estire y retroceda posteriormente durante el desempeño de sus funciones fisiológicas.

El cuadro 50-5 resume las principales diferencias entre el colágeno y la elastina.

Se han encontrado deleciones en el gen elastina (ubicado en 7q11.23) en aproximadamente 90% de los sujetos con el **síndrome de Williams Beuren**, un trastorno del desarrollo que afecta el tejido conjuntivo y el sistema nervioso central. Las mutaciones afectan la síntesis de elastina y probablemente desempeñan un papel causal en la **estenosis aórtica supravalvular**, que a menudo se encuentra en esta afección. La fragmentación, o como alternativa, una disminución de la elastina, se encuentra en afecciones como el **enfisema pulmonar, cutis laxa y envejecimiento de la piel**.

LAS FIBRILINAS SON COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LAS MICROFIBRILLAS

Las **microfibrillas** son hebras finas tipo fibra de 10 a 12 nm de diámetro que proporcionan un **andamiaje** para la deposición de elas-

CUADRO 50-5 Principales diferencias entre el colágeno y la elastina

Colágeno	Elastina
1. Muchos tipos genéticos diferentes	Un tipo genético
2. Triple hélice	Sin triple hélice; conformación de tubo enrollado al azar que permite el estiramiento
3. Estructura repetitiva (Gly-X-Y)n	Sin estructura repetitiva $(Gly\text{-}X\text{-}Y)_n$
4. Presencia de hidroxilisina	Sin hidroxilisina
5. Contiene carbohidratos	Sin carbohidratos
6. Enlaces cruzados de aldol intramolecular	Enlaces cruzados de desmosina intramolecular
7. Presencia de péptidos de extensión durante la biosíntesis	No hay péptidos de extensión presentes durante la biosíntesis

tina en la ECM. Las **fibrilinas** son glucoproteínas grandes (alrededor de 350 kDa), principal componente estructural de estas fibras. Se secretan (tras una división proteolítica) en la ECM por los fibroblastos, y se incorporan a las microfibrillas insolubles. La **fibrilina-1** es la fibrilina principal presente, pero las fibrilinas-2 y 3 también se han identificado, y se cree que la fibrilina-2 es importante en la deposición de microfibrillas al principio del desarrollo. Otras proteínas, incluidas las **glucoproteínas microfibrilla- asociadas** (MAGP), las **fibulinas**, y los **miembros de la familia ADAMTS** también se asocian con las microfibrillas. Las microfibrillas de fibrilina se encuentran en las fibras elásticas, y también en haces libres de elastina en el ojo, el riñón y los tendones.

El síndrome de Marfan es causado por mutaciones en el gen de la fibrilina-1

El **síndrome de Marfan** es una enfermedad hereditaria relativamente frecuente que afecta el tejido conjuntivo; se hereda como un rasgo autosómico dominante. Afecta los **ojos** (p. ej., causa dislocación de la lente, conocida como ectopia lentis), el **sistema esquelético** (la mayoría de los pacientes son altos y presentan largos dedos [aracnodactilia] e hiperextensibilidad de las articulaciones) y el **sistema cardiovascular** (p. ej. de los medios aórticos, lo que lleva a la dilatación de la aorta ascendente). Abraham Lincoln pudo haber tenido esta condición. La mayoría de los casos son causados por mutaciones en el gen (en el cromosoma 15) para la fibrilina-1. Esto ocasiona que se deposite fibrilina anormal y/o cantidades menores en la ECM. Dado que el factor de crecimiento transformante de citocina β (**TGF**-β) normalmente se une a fibrilina-1, la unión disminuida en el síndrome de Marfan causa alteraciones en la señalización del TGF-β. Esto podría conducir potencialmente al desarrollo de terapias para la afección, utilizando fármacos que antagonicen al TGF-β (p. ej., el antagonista del receptor de la angiotensina II, Losartán).

Las mutaciones en el gen de la fibrilina-1 también se han identificado como la causa de la **displasia acromíclica** y la **displasia geleofísica**, que se caracterizan por una baja estatura, engrosamiento de la piel y rigidez en las articulaciones. La **aracnodactilia congénita contractual** se asocia con una mutación en el gen de la fibrilina-2. La secuencia probable de eventos que conducen al síndrome de Marfan se resume en la figura 50-3.

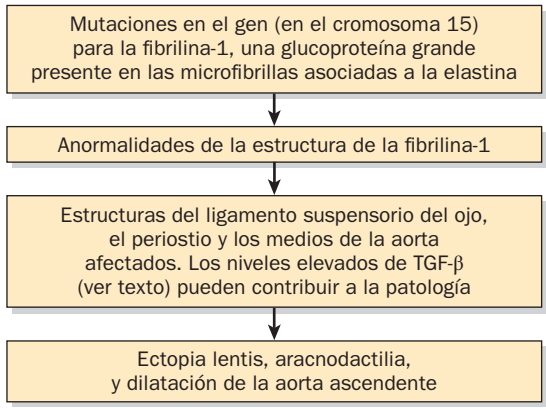


FIGURA 50-3 Probable secuencia de eventos en la causalidad de los principales signos exhibidos por pacientes con síndrome de Marfan.

LA FIBRONECTINA ESTÁ INVOLUCRADA EN LA ADHESIÓN CELULAR Y LA MIGRACIÓN

La **fibronectina** es una glucoproteína principal de la matriz extracelular, que también se encuentra en forma soluble en el plasma. Se compone de dos subunidades idénticas, cada una de aproximadamente 230 kDa, unidas por dos puentes disulfuro cerca de sus terminales carboxilo. El gen que codifica la fibronectina es muy grande y contiene unos 50 exones; el RNA producido por su transcripción está sujeto a un posible corte y empalme alternativo, y se han detectado hasta 20 RNAm diferentes en varios tejidos. La fibronectina contiene tres tipos de motivos repetitivos (I, II y III), que están organizados en **dominios** funcionales (al menos siete); las funciones de estos dominios incluyen enlazar la fibronectina (lo que permite que las moléculas de la proteína interactúen), la **heparina** (ver a continuación), la fibrina, el colágeno y las superficies celulares (figura 50-4). La fibronectina se une a las células a través de una proteína receptora transmembrana que pertenece a la clase **integrina** de proteína (véase el capítulo 55). La fibronectina contiene una **secuencia Arg-Gly-Asp (RGD)** que se une al receptor de integrina. Esta secuencia es compartida por otras proteínas presentes en la ECM, que se unen a las integrinas presentes en las membranas plasmáticas de las células, y su presencia en los péptidos sintéticos les permite inhibir la unión de la fibronectina a las células. La figura 50-5 ilustra la interacción del colágeno, la fibronectina y la laminina –todas proteínas principales de la ECM– con una célula típica presente en la matriz (por ejemplo, un fibroblasto).

El receptor de fibronectina interactúa indirectamente con los microfilamentos de actina (ver capítulo 51), presentes en el citosol a través de varias proteínas conocidas en conjunto como **proteínas de unión**; estas incluyen la **talina, vinculina, α-actinina** y **paxilina** (figura 50-6). Tales grandes complejos proteicos forman **adhesiones focales** que no sólo anclan las células en la ECM, sino que también transmiten señales del exterior que influyen en el comportamiento celular. De aquí que la interacción de la fibronectina con su receptor proporciona una ruta mediante la cual **el exterior de la**

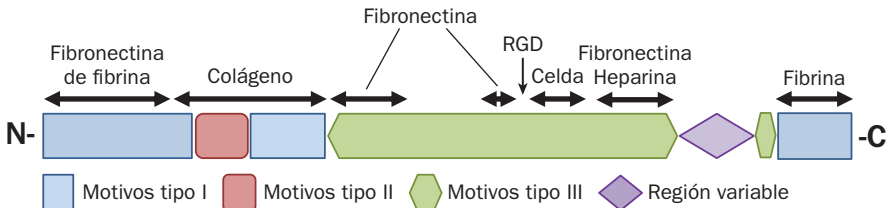


FIGURA 50-4 **Estructura del monómero de fibronectina.** La fibronectina es un dímero unido por puentes disulfuro (no mostrado) cerca de los terminales carboxilo de los monómeros. Cada monómero consiste principalmente en motivos repetidos de tipo I, II o III, y tiene varios dominios de unión a proteínas. Cuatro se unen a la fibronectina, y también hay dominios para el colágeno, la heparina, la fibrina y la unión celular. La ubicación aproximada de la secuencia RGD de fibronectina que interactúa con una variedad de receptores de integrina de fibronectina en las superficies celulares, lo indica la flecha.

célula se puede comunicar con el interior. La fibronectina también está involucrada en la **migración celular**, ya que proporciona un sitio de unión para las células y, por tanto, les ayuda a dirigir su camino a través de la ECM. La cantidad de fibronectina alrededor de muchas **células transformadas** se reduce drásticamente, lo que explica parcialmente su interacción defectuosa con la ECM.

LA LAMININA ES UN COMPONENTE PRINCIPAL DE LA PROTEÍNA DE LAS LÁMINAS BASALES

Las **láminas basales** son áreas especializadas de la ECM que rodean las células epiteliales y algunas otras células (por ejemplo, células musculares). La **laminina** (una glucoproteína de aproximadamente 850 kDa y longitud de 70 nm) consiste en tres cadenas polipeptídicas alargadas distintas (cadenas α, β y γ, cada una de las cuales tiene variantes genéticas) unidas entre sí para formar una forma compleja y alargada (véase la figura 51-11, **que muestra la laminina-2, también llamada merosina**). En las láminas basales, la laminina forma redes que están unidas al colágeno tipo IV por **entactina** (también llamada nidogen), una glucoproteína que contiene una secuencia RGD, y por el proteoglicano heparán sulfato, **perlecán**. El colágeno interactúa con la laminina (y no de forma directa con la superficie de la célula), que a su vez interactúa con las integrinas u otras proteínas como los **distroglicanos** (véase el capítulo 51), anclando así la lámina a las células (figura 50-7).

En el **glomérulo renal**, la lámina basal consiste en dos láminas de células separadas (una endotelial y una epitelial), cada una dispuesta en los lados opuestos de la lámina; estas tres capas forman la **membrana glomerular.** Esta lámina basal relativamente gruesa tiene un papel importante en la **filtración glomerular**. La membrana glomerular permite que moléculas pequeñas, como la **inulina** (5.2 kDa), pasen tan fácilmente como el agua. Por otro lado, las moléculas grandes, incluida la mayoría de las proteínas plasmáticas, no pueden pasar. La razón de esto es doble: 1) Los **poros** de la membrana glomerular tienen aproximadamente 8 nm de ancho, por lo que moléculas mayores que estos no los pueden atravesar. 2) Aunque algunas proteínas plasmáticas, como la albúmina, son más pequeñas que este tamaño de poro, se les impide pasar con facilidad a causa de las **cargas negativas** del heparán sulfato, y de ciertas glucoproteínas que contienen ácido siálico presentes en la lámina, las cuales repelen la mayoría de las proteínas plasmáticas, cargadas negativamente en el pH de la sangre. La estructura normal del glomérulo se puede ver gravemente dañada en ciertos tipos de **glo-**

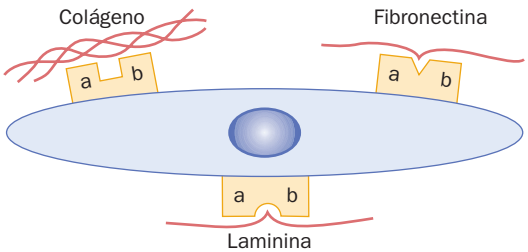


FIGURA 50-5 **Representación esquemática de una interacción celular con proteínas principales de la ECM;** a y b indican cadenas de α- y β-polipéptidos de integrinas.

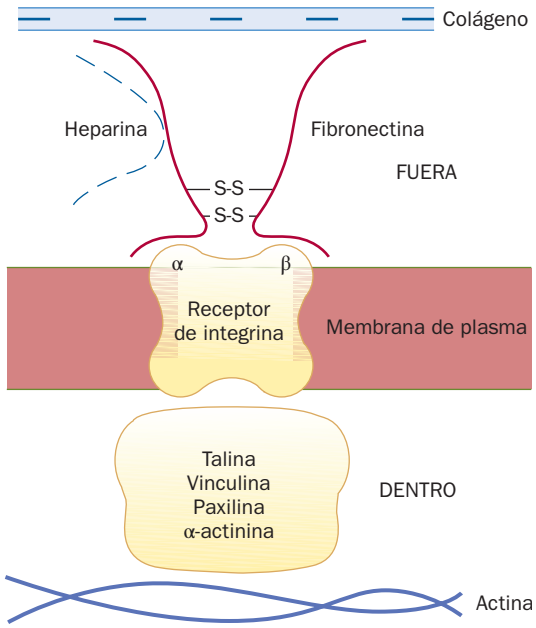


FIGURA 50-6 **Representación esquemática de la fibronectina que interactúa con la actina en el citosol a través de un receptor de integrina fibronectina.** El dímero de fibronectina en el exterior de la membrana plasmática se une al receptor de la integrina, que abarca la membrana a través de las secuencias RGD. En el lado citosólico, la integrina interactúa con proteínas de unión que incluyen la talina, vinculina, α-actinina y paxilina (que se muestra como un complejo) que interactúa con microfilamentos de acción, vinculando indirectamente la fibronectina en la ECM con la acción en el citosol celular.

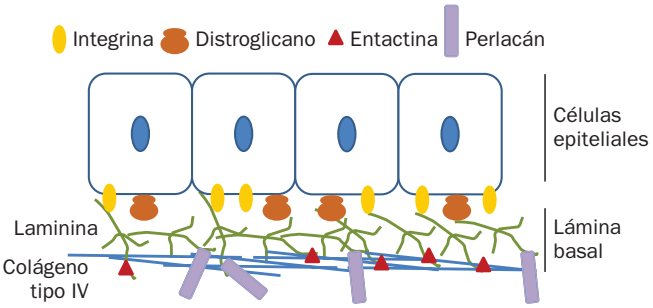


FIGURA 50-7 Estructura de la lámina basal. La laminina se une al colágeno tipo IV a través de la entactina y el perlecán (formando la lámina basal), y a la capa de células epiteliales a través de integrinas y distroglicanos.

merulonefritis (p. ej., la causada por anticuerpos dirigidos contra diversos componentes de la membrana glomerular). Esto afecta los poros y las cantidades y disposiciones de las macromoléculas cargadas negativamente ya mencionadas, y cantidades masivas de albúmina (y de otras proteínas del plasma) pueden pasar a la orina, dando como resultado una **albuminuria** severa.

PROTEOGLICANOS Y GLICOSAMINOGLUCURONANOS

Los glicosaminoglucuronanos encontrados en los proteoglicanos están formados por la repetición de disacáridos

Los **proteoglicanos**, proteínas que contienen GAG unidos de forma covalente (véanse también los capítulos 15 y 46) son un componente principal de la ECM. Se han caracterizado al menos 30; por ejemplo, sindecano, β-glucano, serglicina, perlecán, agrecano, versicano, decorina, biglicano y fibromodulina. Un proteoglicano consiste en una **proteína de núcleo** unida en forma covalente a un glicosaminoglucuronano GAG, y estas unidades forman grandes complejos con otros componentes de la matriz extracelular, como el ácido hialurónico o el colágeno. Las figuras 50-8 y 50-9 muestran la estructura general de tales complejos. Son muy grandes, con una estructura general que se asemeja a un hisopo. El ejemplo que se muestra en la figura 50-9 contiene una larga hebra de ácido hialurónico (un tipo de GAG) (véase el capítulo 15), al que las proteínas se pueden unir de forma **no covalente**. A su vez, las proteínas de enlace interactúan de forma no covalente con las moléculas de la proteína de núcleo, a partir de las cuales se proyectan las cadenas de otros GAG (p. ejemplo, queratán sulfato y condoitrín sulfato). Los proteoglicanos varían en la distribución en los tejidos, la naturaleza de la proteína de núcleo, los GAG adheridos y sus funciones. La cantidad de **carbohidratos** en un proteoglicano es usualmente mucho mayor que la encontrada en una glucoproteína, y puede comprender hasta 95% de su peso.

Hay al menos siete GAG: **ácido hialurónico** (**hialuronano**), **condroitín sulfato**, **queratán sulfatos I y II**, **heparina**, **heparán sulfato** y **dermatán sulfato**. Los GAG son polisacáridos no ramificados formados por disacáridos repetidos, uno de cuyos componentes es siempre un **aminoazúcar** (de ahí el nombre GAG), ya sea d-glucosamina o d-galactosamina. El otro componente del disacárido repetitivo (excepto en el caso del queratán sulfato) es un **ácido urónico**, ya sea ácido d-glucurónico (GlcUA) o su 5'-epímero, ácido L-idurónico (IdUA). Con la excepción del ácido hialurónico, todos los GAG contienen **grupos sulfato**, como O-ésteres o como *N*-sulfato (en heparina y heparán sulfato). El ácido hialurónico también es excepcional, porque parece existir como un polisacárido en la ECM sin una unión covalente a la proteína, como especifica la referida definición de un proteoglicano. Tanto los GAG como los proteoglicanos han demostrado ser difíciles de manejar, en parte debido a su complejidad. Sin embargo, dado que son componentes principales de la ECM y tienen una serie de roles biológicos importantes, además de estar involucrados en una serie de procesos de enfermedad, el interés en ellos ha aumentado enormemente en los últimos años.

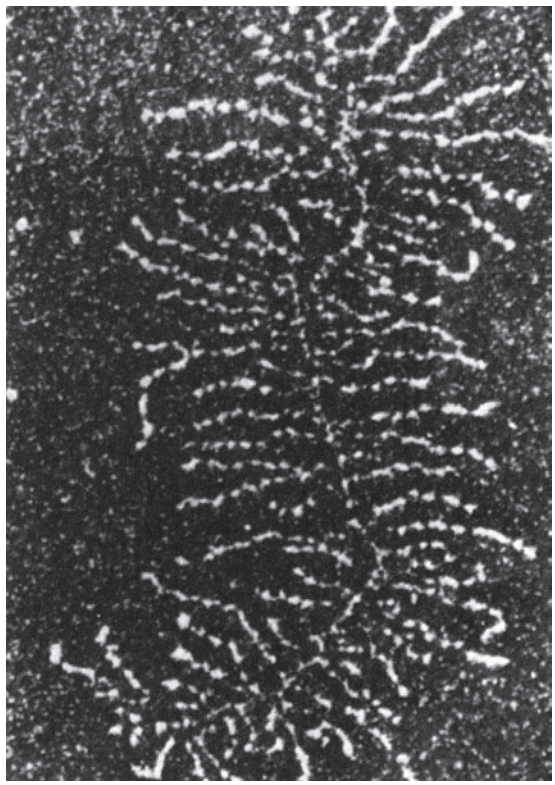


FIGURA 50-8 Micrografía electrónica en campo oscuro de un agregado proteoglicano. Las subunidades de proteoglicanos y la columna vertebral filamentosa están particularmente bien extendidas en esta imagen. (Reproducido, con permiso, de Rosenberg L, Hellman W, Kleinschmidt AK: Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage. J Biol Chem 1975;250:1877).

La biosíntesis de los glicosaminoglucuronanos implica el acoplamiento a las proteínas del núcleo, la elongación de la cadena y la terminación de la cadena

Anexión a las proteínas del núcleo

La relación entre los GAG y sus proteínas de núcleo por lo general es una de los tres tipos siguientes:

1. Un **enlace *O*-glucosídico** entre la xilosa (**Xyl**) y la serina (**Ser**), enlace exclusivo de los proteoglicanos. Está formado por la

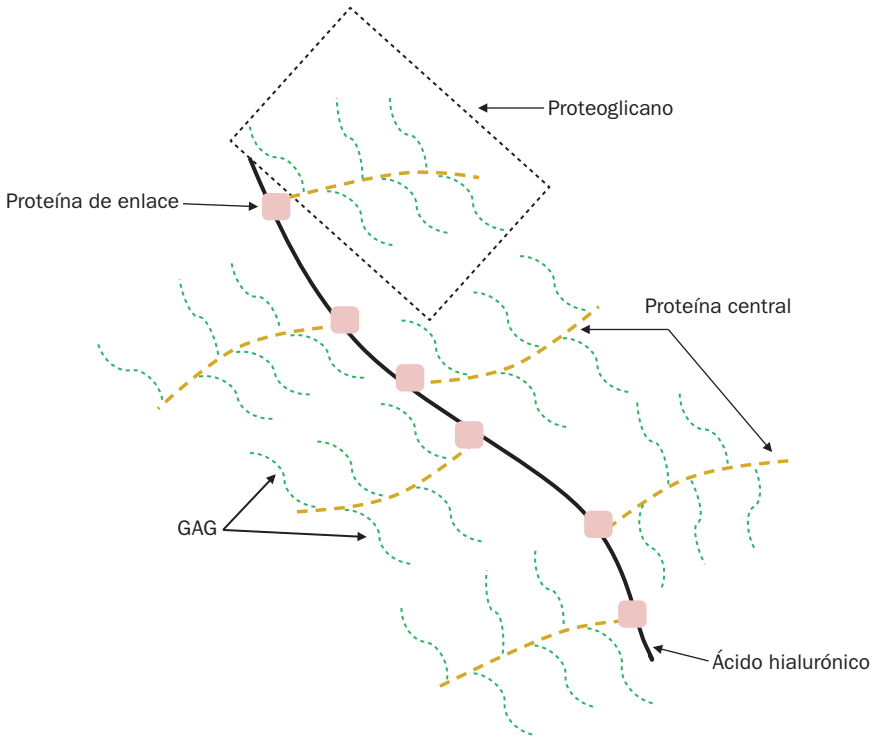


FIGURA 50-9 Representación esquemática de un complejo de proteoglicanos. En este ejemplo los proteoglicanos se unen mediante enlaces no covalentes para unir proteínas que, a su vez, se unen de forma no covalente a una cadena larga del ácido hialurónico glicosaminoglucuronano (GAG).

transferencia de un residuo Xyl a la Ser desde la UDP-xilosa. Luego se agregan dos residuos de galactosa (Gal) al residuo Xyl, formando un **enlace trisacárido, Gal-Gal-Xyl-Ser**. Se produce un crecimiento adicional de la cadena del GAG en el terminal Gal.

2. Un enlace ***O*-glucosídico** entre la GalNAc (***N*-acetilgalactosamina**) y la **Ser** (**Thr**) (ver figura 46-1A), presente en el queratán sulfato II. Este enlace se forma por donación a la **Ser(Thr)** de un residuo de GalNAc, empleando la UDP-GalNAc como su donante.
3. Un **enlace de *N*-glucosilamina** entre la **GlcNAc** (*N*-acetil glucosamina) y el nitrógeno de amida de la **Asn**, como se encuentra en las glucoproteínas *N*-ligadas (véase la figura 46-1B). Se cree que su síntesis involucra los oligosacáridos dolicol-PP.

La síntesis de las proteínas del núcleo se produce en el **ER**, y la formación de al menos algunos de los enlaces anteriores también se produce allí. La mayoría de los pasos posteriores en la biosíntesis de las cadenas de GAG y sus modificaciones posteriores se producen en el **aparato de Golgi.**

Elongación de cadena

Azúcares de nucleótidos apropiadas y **glucosiltransferasas** altamente específicas Golgi-localizadas se usan para sintetizar las cadenas de oligosacáridos de los GAG. La relación "**una enzima, un enlace**" parece cumplirse aquí, como en el caso de ciertos tipos de enlaces encontrados en las glucoproteínas. Los sistemas enzimáticos implicados en el alargamiento de la cadena son capaces de una reproducción de alta fidelidad de los GAG complejos (véase también el capítulo 46).

Terminación de la cadena

Esto parece ser el resultado de 1) **sulfatación**, particularmente en ciertas posiciones de los azúcares, y 2) la **progresión** de la cadena en crecimiento del GAG lejos del sitio de la membrana donde se produce la catálisis.

Modificaciones adicionales

Tras la formación de la cadena del GAG, se producen **numerosas modificaciones químicas**, tales como la introducción de grupos sulfato en GalNAc y otros restos, y la epimerización de los residuos de GlcUA en IdUA. Las enzimas que catalizan la sulfatación se denominan **sulfotransferasas** y usan el **3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato** [PAPS; sulfato activo] (ver capítulo 32) como el donante de sulfato. Estas enzimas Golgi-localizadas son altamente específicas, y diferentes enzimas catalizan la sulfatación en diferentes posiciones (por ejemplo, los carbonos 2, 3, 4 y 6) en los azúcares aceptores. Una **epimerasa** cataliza las conversiones de glucuronilo en residuos de iduronilo.

Los proteoglicanos son importantes en la organización estructural de la matriz extracelular

Los proteoglicanos se encuentran en **cada tejido** del cuerpo, principalmente en la ECM o "sustancia fundamental". Allí están asociados entre sí, y también con los otros componentes estructurales

principales de la matriz –el colágeno y la elastina– de maneras específicas; unos proteoglicanos se unen al colágeno, y otros a la elastina. Estas interacciones son importantes para determinar la organización estructural de la matriz. Algunos proteoglicanos (p. ej., la decorina) también pueden **enlazar factores de crecimiento** tales como el TGF-β, modulando sus efectos sobre las células. Además, algunos de ellos interactúan con ciertas **proteínas adhesivas**, como la fibronectina y laminina (véase más arriba), que también se encuentran en la matriz. Los GAG presentes en los proteoglicanos son polianiones, y por tanto se unen a policationes y cationes tales como el Na^+ y K^+. Esta última habilidad atrae agua por la presión osmótica en la matriz extracelular, y contribuye a su turgencia. Los GAG también se **gelifican** a concentraciones relativamente bajas. Debido a la naturaleza larga y extendida de las cadenas de polisacáridos de los GAG y su capacidad para gelificar, los proteoglicanos pueden actuar como **tamices**, restringiendo el paso de macromoléculas grandes en la ECM, pero permitiendo una difusión casi libre de moléculas pequeñas. De nuevo, a causa de sus estructuras extendidas y a los enormes agregados macromoleculares que forman a menudo, ocupan un gran volumen de la matriz con respecto a las proteínas.

Varios glicosaminoglucuronanos exhiben diferencias en la estructura y tienen distribuciones características y funciones diversas

Los siete GAG mencionados anteriormente difieren entre sí en varias de las siguientes propiedades: composición de aminoazúcar, composición de ácido urónico, enlaces entre estos componentes, longitud de cadena de los disacáridos, presencia o ausencia de grupos sulfato y sus posiciones de unión a los azúcares constituyentes, la naturaleza de las proteínas de núcleo a las que están unidos, la naturaleza del enlace con la proteína de núcleo, su distribución tisular y subcelular, y sus funciones biológicas.

La estructura (figura 50-10), la distribución y las funciones de cada uno de los GAG serán discutidas brevemente. Las principales características de los siete GAG se resumen en el cuadro 50-6.

Ácido hialurónico

El **ácido hialurónico** consiste en una cadena no ramificada de unidades de disacáridos repetidos que contienen GlcUA y GlcNAc. Está presente en las bacterias y se encuentra en la ECM de casi todos los tejidos animales, pero tiene una concentración especialmente alta en tipos muy hidratados como la piel y el cordón umbilical, y en el hueso, cartílago, articulaciones (líquido sinovial) y el humor vítreo en el ojo, así como en los tejidos embrionarios. Se cree que desempeña un papel importante al permitir la **migración celular** durante la morfogénesis y la reparación de heridas. Su capacidad para atraer agua al ECM desencadena la relajación de la matriz, ayudando a este proceso. Las altas concentraciones de ácido hialurónico, junto con el condoitrín sulfato presente en el **cartílago**, contribuyen a su compresibilidad (ver a continuación).

Condroitín sulfatos (condroitín 4-sulfato y condroitín 6-sulfato)

Los proteoglicanos unidos al **condroitín sulfato** por el enlace O-glucosídico Xyl-Ser son componentes prominentes del **cartílago**

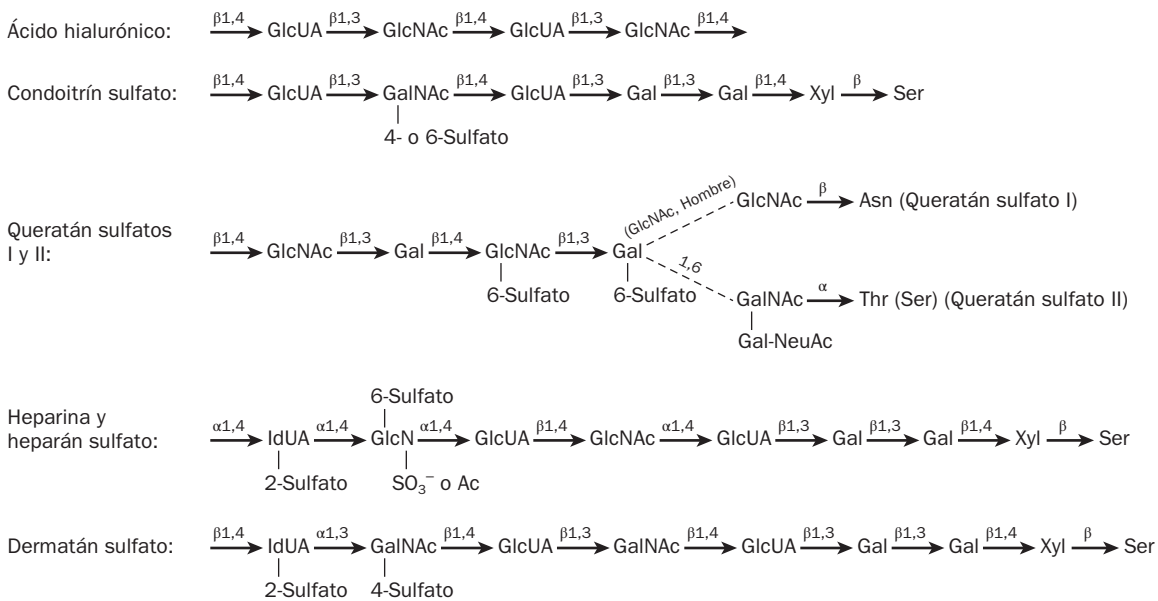


FIGURA 50-10 Estructuras de glicosaminoglucuronanos y sus uniones a las proteínas de núcleo. (Ac, acetilo, Asn, L-asparagina; Gal, D-galactosa; GalN, D-galactosamina; GlcN, D-glucosamina; GlcUA, ácido D-glucurónico; IdUA, ácido L-idurónico; Hombre, D-manosa; NeuAc , Ácido *N*-acetilneuramínico; Ser, L-serina; Thr, L-treonina; Xyl, L-xilosa). Las estructuras resumidas son sólo representaciones cualitativas y no reflejan, por ejemplo, la composición de ácido hurónico de glicosaminoglucuronanos híbridos como la heparina y el dermatán sulfato, que contienen tanto ácido L-idurónico como ácido D-glucurónico. El ácido hialurónico no tiene un efecto covalente sobre las proteínas. Los sulfatos de condroitina, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato se unen a una Ser en la proteína del núcleo a través del trisacárido de enlace Gal-Gal-Xyl. El queratán sulfato I se une a una proteína central Asn a través de la GlcNAc y el queratán sulfato II a una Ser (o Thr) a través de la GalNAc.

CUADRO 50-6 Propiedades de los glicosaminoglucuronanos

GAG	Azúcares	Sulfato[a]	Enlace a proteína	Ubicación
Ácido hialurónico	GlcNAc, GLcUA	–	No	Piel, fluido sinovial, hueso, cartílago, humor vítreo, tejidos embrionarios
Condroitín sulfato	GalNAc, GlcUA	GalNAc	Xyl-Ser; asociado con HA a través de proteínas de enlace	Cartílago, hueso, CNS
Queratán sulfato I y II	GlcNAc, Gal	GlcNAc	GlcNAc-Asn (KS I) GalNAc-Thr (KS II)	Córnea, cartílago, tejido conjuntivo suelto
Heparina	Gln, IdUA	GlcN GlcN IdUA	Ser	Mastocitos, hígado, pulmón, piel
Heparán sulfato	GlcN, GlcUA	GlcN	Xyl-Ser	Piel, membrana basal del riñón
Dermatán sulfato	GalNAc, IdUA, (GlcUA)	GalNAc IdUA	Xyl-Ser	Piel, amplia distribución

[a]El sulfato está unido a varias posiciones de los azúcares indicados (véase la figura 50-10). Tenga en cuenta que todos los GAG, excepto los queratán sulfatos, contienen un ácido urónico que puede ser ácido glucurónico o idurónico.

(ver a continuación). El disacárido repetitivo es similar al encontrado en el ácido hialurónico, que contiene GlcUA pero con **GalNAc** reemplazando al GlcNAc. El GalNAc se sustituye con **sulfato** en su posición 4' o en la 6', con aproximadamente un sulfato presente por unidad de disacárido. Los condroitín sulfatos tienen un papel importante en el mantenimiento de la estructura de la ECM. Se localizan en sitios de calcificación en el **hueso** endocondral, y son un componente principal del **cartílago**. Se encuentran en grandes cantidades en la ECM del sistema nervioso central, y además de su función estructural se cree que actúan como moléculas de señalización en prevenir la reparación de las terminales nerviosas después de una lesión.

Queratán Sulfatos I y II

Como se muestra en la figura 50-10, los queratán sulfatos consisten en unidades repetidas de disacáridos **Gal-GlcNAc**, que contienen **sulfato** unido a la posición 6' de la GlcNAc u ocasionalmente de la Gal. En principio, el **queratán sulfato I** se aisló de la **córnea**, mientras que el **queratán sulfato II** del cartílago. Los dos GAG difieren en los enlaces estructurales a las proteínas del núcleo, y como I o II, la clasificación se basa en los diferentes enlaces a la proteína del núcleo (figura 50-10). En el ojo se encuentran entre las fibrillas de colágeno y juegan un papel fundamental en la transparencia corneal. Los cambios en la composición de proteoglicanos encontrados en las cicatrices corneales desaparecen cuando la córnea se cura.

Heparina

El disacárido repetitivo **heparina** contiene **glucosamina** (GlcN) y cualquiera de los dos ácidos urónicos (GlcUA o IdUA (figura 50-11). La mayoría de los grupos amino de los residuos GlcN están **N-sulfatados**, pero unos pocos están acetilados (GlcNAc). El GlcN también lleva un sulfato unido al carbono 6.

La mayoría de los residuos de ácido urónico son **IdUA**. Al inicio, todos los ácidos urónicos son GlcUA, pero una 5'-epimerasa convierte aproximadamente 90% de los residuos de GlcUA en IdUA después que se forma la cadena de polisacáridos. La molécula de proteína del proteoglicano de heparina es única, y consiste exclusivamente en residuos de serina y glicina. Al menos dos tercios de los residuos de serina contienen cadenas de GAG, por lo general de 5 a 15 kDa, pero mucho más grandes en ocasiones. La heparina se encuentra en los gránulos de los **mastocitos** y también en el hígado, los pulmones y la piel. Es un **anticoagulante** importante. Se libera en la sangre desde las paredes capilares por la acción de la lipoproteína lipasa, y se une con los factores IX y XI, pero su interacción más importante es con la **antitrombina plasmática** (discutida en el capítulo 55).

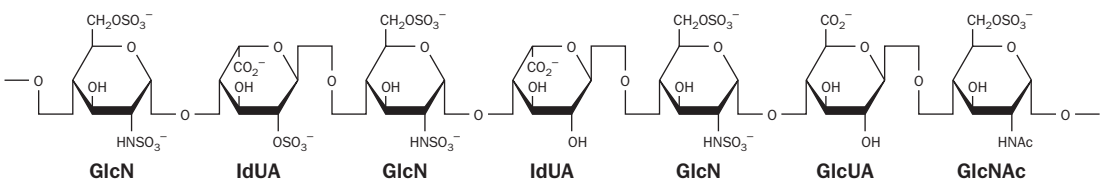


FIGURA 50-11 Estructura de la heparina. Se muestran las características estructurales típicas de la heparina. Cada disacárido que se repite contiene glucosamina (GlcN) y ácido D-glucurónico (GlcUA), o ácido L-idurónico (IdUA). Algunos restos GlcN están acetilados (GlcNAc). La secuencia de unidades de disacáridos que se repiten, sustituidas de forma diversa, se ha seleccionado arbitrariamente. También pueden ocurrir residuos de glucosamina no-*O*-sulfatados o 3-*O*-sulfatados. (Modificado y redibujado de Lindahl U, *et al*: Structure and biosynthesis of heparin-like polysaccharides. Fed Proc 1977;36:19).

Heparán sulfato

Esta molécula está presente en un proteoglicano que se encuentra en muchas **superficies celulares** extracelulares. Contiene **GlcN** con menos *N*-sulfatos que la heparina, y a diferencia de la heparina su ácido urónico predominante es el GlcUA. Los heparán sulfatos se asocian con la membrana plasmática de las células, con sus proteínas de núcleo que en realidad abarcan esa membrana. En esto pueden actuar como **receptores**, y también pueden participar en la mediación del **crecimiento celular** y la **comunicación célula-célula**. La unión de las células a su substrato en un cultivo está mediada, al menos en parte, por el heparán sulfato. Este proteoglucano también se encuentra en la **membrana basal del riñón** junto con el colágeno tipo IV y la laminina (ver arriba), donde juega un papel importante en la determinación de la selectividad de carga de la filtración glomerular.

Dermatán sulfato

Esta sustancia se distribuye ampliamente en los tejidos animales. Su estructura es similar a la del condoitrín sulfato, excepto que en lugar de un GlcUA en el enlace β-1,3 con la GalNAc, contiene un **IdUA** en un enlace α-1,3 con la **GalNAc**. La formación del IdUA ocurre, como en la heparina y el heparán sulfato, mediante la 5'-epimerización del GlcUA. Como esto está regulado por el grado de sulfatación, y debido a que la sulfatación es incompleta, el dermatán sulfato contiene **ambos** disacáridos: IdUA-GalNAc y GlcUA-GalNAc. El **dermatán sulfato** tiene una amplia distribución en los tejidos, y es el principal GAG en la piel. La evidencia sugiere que puede jugar un papel en la coagulación de la sangre, la reparación de heridas y la resistencia a las infecciones.

Los proteoglicanos también se encuentran en **ubicaciones intracelulares** tales como el núcleo, donde se cree que tienen un papel regulador en las funciones de la proliferación celular y el transporte de moléculas entre el núcleo y el citosol. Las diversas funciones de los GAG se resumen en el cuadro 50-7.

CUADRO 50-7 Algunas funciones de los glicosaminoglucuronanos y proteoglicanos

- Actúan como componentes estructurales de la ECM
- Tienen interacciones específicas con el colágeno, elastina, fibronectina, laminina y otras proteínas como los factores de crecimiento
- Como polianiones, unen policationes y cationes
- Contribuyen a la turgencia característica de varios tejidos
- Actúan como tamices en la ECM
- Facilitan la migración celular (HA)
- Tienen un papel en la compresibilidad del cartílago en el soporte de peso (HA, CS)
- Desempeñan un papel en la transparencia corneal (KS I y DS)
- Tienen un papel estructural en la esclerótica (DS)
- Actúan como anticoagulantes (heparina)
- Son componentes de las membranas plasmáticas, donde pueden actuar como receptores y participar en la adhesión celular y las interacciones célula-célula (p. ej., HS)
- Determinan la selectividad de carga del glomérulo renal (HS)
- Son componentes de las vesículas sinápticas y otras vesículas (p. ej., HS)
- Desempeñan un papel en las funciones del núcleo, como la proliferación celular y el transporte de moléculas entre el núcleo y el citosol

Abreviaturas: CS, condoitrín sulfato; DS, dermatán sulfato; ECM, matriz extracelular; HA, ácido hialurónico; HS, heparán sulfato; KS I, queratán sulfato I.

Las deficiencias de las enzimas que degradan los glicosaminoglucuronanos resultan en mucopolisacaridosis

Ambas, **exo-** y **endoglucosidasas**, degradan los GAG. Al igual que la mayoría de las otras biomoléculas, los GAG están sujetos a **renovación**, siendo ambos *sintetizadados* y degradados. En los tejidos adultos por lo general los GAG muestran un recambio relativamente **lento**, sus vidas medias son de días a semanas.

La comprensión de las vías de degradación de los GAG, como en el caso de las glucoproteínas (véase el capítulo 46) y los glucósidos de los glifosfatos (capítulo 24), se ha visto facilitada por la elucidación de las deficiencias enzimáticas específicas que se producen en **ciertos errores congénitos del metabolismo**. Cuando los GAG están involucrados, estos errores innatos se denominan **mucopolisacaridosis** (**MPS**) (cuadro 50-8).

La **degradación** de los GAG se lleva a cabo mediante un grupo de **hidrolasas lisosomales**. Estas incluyen endoglucosidasas, exoglucosidasas y sulfatasas, que por lo general actúan en secuencia. Los **MPS** (cuadro 50-8) comparten un mecanismo común de causalidad, que implica una mutación en un gen que codifica una hidroxilasa lisosomal responsable de la degradación de uno o más GAG. Esto conduce a un defecto en la enzima, y a la acumulación de los GAG del sustrato en diversos tejidos, incluidos el hígado, el bazo, los huesos, la piel y el sistema nervioso central. Es usual que las enfermedades se hereden de manera **autosómica recesiva**, siendo quizá los **síndromes de Hurler** y **Hunter** los más estudiados. Ninguno es común. En general, estas afecciones son crónicas y progresivas y afectan a múltiples órganos. Muchos pacientes presentan organomegalia (p. ej., hepato y esplenomegalia), anomalías severas en el desarrollo de huesos y cartílagos, apariencia facial anormal, y retraso mental. Además, pueden estar presentes defectos en la audición, la visión y el sistema cardiovascular. Las pruebas de diagnóstico incluyen análisis de GAG en muestras de orina o de biopsias en tejidos, pruebas en leucocitos, fibroblastos o suero de enzimas sospechosas de defectos, y exámenes para genes específicos. A veces el diagnóstico prenatal es posible usando células de líquido amniótico, o biopsias de vellosidades coriónicas. En algunos casos se obtiene un **historial familiar** de una mucopolisacaridosis.

El término "mucolipidosis" se introdujo para denotar enfermedades que combinaban características comunes tanto a las mucopolisacaridosis como a las esfingolipidosis (capítulo 24). En la **sialidosis** (mucolipidosis I, ML-I), varios oligosacáridos derivados de glucoproteínas, y ciertos gangliósidos se acumulan en los tejidos. La **enfermedad de células I** (ML-II) y la **polidistrofia pseudo-Hurler** (MLIII) se describen en el capítulo 46. El término "mucolipidosis" se conserva porque todavía se usa de manera relativamente generalizada, pero no es apropiado para estas dos últimas enfermedades, ya que el mecanismo de su causalidad implica una **mala ubicación** de ciertas enzimas lisosómicas. Los defectos genéticos del catabolismo de las cadenas de oligosacáridos de las glucoproteínas (p. ej., manosidosis, fucosidosis) también se describen en el capítulo 46. La mayoría de estos defectos se caracterizan por una mayor excreción de diversos fragmentos de glucoproteínas en la orina, que se acumulan debido al bloqueo metabólico como en el caso de las mucolipidosis.

La **hialuronidasa** es una enzima importante implicada en el catabolismo del ácido hialurónico y el condoitrín sulfato. Es una endoglicosidasa ampliamente distribuida que escinde enlaces hexosaminídicos. A partir del ácido hialurónico, la enzima generará un

tetrasacárido con la estructura (GlcUAβ-1,3-GlcNAc-β-1,4)$_2$, que se puede degradar adicionalmente por una β-glucuronidasa y una β-*N*-acetilhexosaminidasa. Un defecto genético en la hialuronidasa causa MPS IX, un trastorno de almacenamiento lisosomal en el cual el ácido hialurónico se acumula en las articulaciones.

Los proteoglicanos están asociados con enfermedades importantes y con el envejecimiento

El ácido hialurónico puede ser importante para permitir que las **células tumorales** migren a través de la ECM. Las células tumorales pueden inducir fibroblastos para sintetizar grandes cantidades de este GAG, lo que facilita su propia propagación. Algunas células tumorales tienen menos heparán sulfato en su superficie, y esto puede jugar un papel en la **falta de adhesividad** que exhiben tales células.

La túnica íntima de la **pared arterial** contiene ácido hialurónico y condoitrín sulfato, dermatán sulfato y proteoglicanos de heparán sulfato. De estos proteoglicanos, el dermatán sulfato se une a las lipoproteínas de baja densidad del plasma. Además, el dermatán sulfato parece ser el principal GAG sintetizado por las células musculares lisas arteriales. Debido a que estas células proliferan en las **lesiones ateroscleróticas** de las arterias, el dermatán sulfato puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de la placa aterosclerótica.

En varios tipos de **artritis**, los proteoglicanos pueden actuar como **autoantígenos**, contribuyendo así a las características patológicas de estas afecciones. La cantidad de condoitrín sulfato en el cartílago disminuye con la edad, mientras que aumentan las cantidades de queratán sulfato y ácido hialurónico. Estos cambios pueden contribuir al desarrollo de la **osteoartritis**, ya que pueden aumentar la actividad de la enzima agrecanasa, que actúa para degradar el agrecano. Los cambios en las cantidades de ciertos GAG en la piel ayudan a explicar sus alteraciones características con el **envejecimiento**.

En los últimos años ha quedado claro que además de su función estructural en la ECM, los proteoglicanos funcionan como moléculas de señalización que influyen en el comportamiento celular, y ahora se cree que juegan un papel en diversas enfermedades como la fibrosis, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer.

EL HUESO ES UN TEJIDO CONECTIVO MINERALIZADO

El hueso contiene material tanto **orgánico** como **inorgánico**. La materia **orgánica** es principalmente **proteína**. Las principales proteínas del hueso se enumeran en el cuadro 50-9; el **colágeno tipo I** es la proteína principal, que comprende 90 a 95% del material orgánico. El colágeno tipo V también está presente en pequeñas cantidades, al igual que varias proteínas no colágenas, algunas de las cuales son relativamente específicas del hueso. Se cree que estos juegan ahora una parte activa del proceso de mineralización. El componente **inorgánico** o mineral es principalmente **hidroxiapatita cristalina**, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, junto con sodio, magnesio, carbonato y fluoruro;

CUADRO 50-8 Las mucopolisacaridosis

Nombre de la enfermedad	Abreviatura[a]	Enzima defectuosa	GAG afectado	Síntomas
Síndrome de Hurler-, Scheie-Hurler-Scheie	MPS I	α-L-Iduronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato	Retraso mental, rasgos faciales toscos, hepatoesplenomegalia, córnea nublada
Síndrome de Hunter	MPS II	Iduronato sulfatasa	Dermatán sulfate, heparán sulfate	Retraso mental
Síndrome de Sanfilippo A	MPS IIIA	Heparán sulfato-*N*-sulfatasa[b]	Heparán sulfato	Retraso en el desarrollo, disfunción motora
Síndrome de Sanfilippo B	MPS IIIB	α-*N*-acetilglucosaminidasa	Heparán sulfato	Igual a MPS IIIA
Síndrome de Sanfilippo C	MPS IIIC	α-glucosaminida *N*-acetiltransferasa	Heparán sulfato	Igual a MPS IIIA
Síndrome de Sanfilippo D	MPS IIID	*N*-acetilglucosamina 6-sulfatasa	Heparán sulfato	Igual a MPS IIIA
Síndrome de Morquio A	MPS IVA	Galactosamina 6-sulfatase	Queratán sulfato, condroitín 6-sulfate	Displasia esquelética, corta estatura
Síndrome de Morquio B	MPS IVB	β-galactosidasa	Queratán sulfato	Igual a MPS IVA
Síndrome de Maroteaux-Lamy	MPS VI	*N*-acetilgalactosamina 4-sulfatasa[c]	Dermatán sulfato	Curvatura de la columna vertebral, baja estatura, displasia esquelética, defectos cardiacos
Síndrome de Sly	MPS VII	β-glucuronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato	Displasia esquelética, baja estatura, hepatomegalia, córnea nublada
Síndrome de Natowicz	MPS IX	Hialuronidasa	Ácido hialurónico	Dolor articular, estatura corta

[a] Los términos MPS V y MPS VIII ya no se usan.
[b] También se llama sulfamidasa.
[c] También se llama arilsulfatasa B.

CUADRO 50-9 Las principales proteínas encontradas en el hueso[a]

Proteínas	Comentarios
Colágenos	
Colágeno tipo I	Aproximadamente 90% de la proteína ósea total. Compuesto por dos cadenas α1(I) y una cadena α2(I).
Colágeno tipo V	Componente menor
Proteínas no colágenas	
Proteínas plasmáticas	Mezcla de varias proteínas plasmáticas.
Proteoglicanos[b] CS-PG I (biglicano)	Contiene dos cadenas GAG; encontrada en otros tejidos
CS-PG II (decorina)	Contiene una cadena GAG; encontrada en otros tejidos
CS-PG III	Hueso-específica
Proteína SPARC[c] ósea (osteonectina)	No hueso-específica
Osteocalcina (proteína Gla del hueso)	Contiene residuos de γ-carboxiglutamato (Gla) que se unen a la hidroxiapatita. Hueso-específica.
Osteopontina	No hueso-específica. Glucosilada y fosforilada.
Sialoproteína ósea	Hueso-específica. Muy glucosilada y sulfatada en tirosina.
Proteínas morfogenéticas óseas (BMP)	Familia de proteínas (al menos 20) secretadas con una variedad de acciones en el hueso; muchas inducen crecimiento óseo ectópico.
Osteoprotegerina	Inhibe la osteoclastogénesis

[a] Las proteínas no colágenas están involucradas en la regulación del proceso de mineralización. Varias otras proteínas también están presentes en el hueso, incluida una proteína de matriz ácida rica en tirosina (TRAMP), algunos factores de crecimiento (por ejemplo, TGF-β) y enzimas implicadas en la síntesis de colágeno (por ejemplo, lisil oxidasa).
[b] CS-PG, condoitrín sulfato-proteoglicano; estos son similares a las PG de dermatán sulfato (DS-PG) de cartílago.
[c] SPARC, proteína secretada ácida y rica en cisteína.

aproximadamente 99% del calcio del cuerpo está contenido en el hueso (vea el capítulo 44). La hidroxiapatita confiere al hueso la fuerza y la resistencia requeridas para sus funciones fisiológicas.

El hueso es una **estructura dinámica** sometida a ciclos continuos de remodelación, que consisten en la reabsorción (desmineralización) seguida de la deposición de nuevo tejido óseo (mineralización). Esta remodelación permite que el hueso se adapte tanto a las señales físicas (por ejemplo, aumentos de peso) como a las hormonales.

Los principales tipos de células implicadas en la resorción y la deposición ósea son los **osteoclastos** y los **osteoblastos** respectivamente (figura 50-12). Los **osteocitos** se encuentran en el hueso maduro, y también participan en el mantenimiento de la matriz ósea. Descienden de los osteoblastos y son muy longevos, con una vida media de 25 años.

Los **osteoclastos** son células multinucleadas derivadas de células madre hematopoyéticas pluripotentes. Los osteoclastos poseen un dominio de membrana apical, y presentan un borde ondulado que desempeña un papel clave en la resorción ósea (figura 50-13). Una **ATPasa** especial de translocación de protones expulsa protones a través del borde ondulado hacia el área de reabsorción, que es el microambiente de pH bajo que se muestra en la figura. Esto reduce el pH local a 4.0 o menos, aumentando así la solubilidad de la hidroxiapatita y ayudando a su descomposición en Ca^{2+}, H_3PO_4 y H_2CO_3, y agua, permitiendo así que ocurra la desmineralización. Las proteasas de ácido lisosómico tales como las catepsinas también se liberan para digerir las proteínas de matriz ahora accesibles. Los **osteoblastos** –células mononucleares derivadas de precursores mesenquimatosos pluripotentes– sintetizan la mayoría de las proteínas que se encuentran en el hueso (cuadro 50-9), así como diversos factores de crecimiento y citoquinas. Son responsables de la deposición de la nueva matriz ósea (osteoide), y su posterior mineralización. Los osteoblastos **controlan la mineralización** al regular el paso de los iones calcio y fosfato a través de sus membranas superficiales. La **fosfatasa alcalina**, una enzima en la membrana celular, genera iones fosfato a partir de fosfatos orgánicos. Los mecanismos implicados en la mineralización no se conocen por completo, pero existen varios factores involucrados que incluyen la **fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNAP)**, una isoenzima de la fosfatasa alcalina; vesículas de matriz que contienen calcio y fosfato y brotan de la membrana osteoblástica; y **colágeno tipo I**. La mineralización se hace evidente primero en los gaps entre las moléculas sucesivas de colágeno. Se cree que las **fosfoproteínas ácidas**, tales como la **sialoproteína ósea y la osteopontina**, actúan como sitios de nucleación. Estas proteínas contienen secuencias RGD para la unión celular y motivos (por ejemplo, estiramientos de poli-Asp y poli-Glu) que se unen al calcio y pueden proporcionar un andamio inicial para la mineralización. Algunas macromoléculas, como ciertos proteoglicanos y glucoproteínas, también pueden actuar como **inhibidores** de la nucleación.

El hueso consiste en dos tipos de tejido, el **hueso trabecular** (**también llamado areolar o esponjoso**) que se encuentra al final de los huesos largos cerca de las articulaciones, y es menos denso que el **hueso compacto** (**o cortical**), que además de ser más denso es más duro y más fuerte; forma la corteza (o cubierta externa) de la mayoría de los huesos y representa aproximadamente 80% del peso del esqueleto humano. Se estima que aproximadamente 4% del hueso compacto y 20% del hueso trabecular se **renuevan anualmente** en un adulto sano típico. Muchos factores están involucrados en la **regulación del metabolismo óseo,** algunos de los cuales **estimulan la actividad de los osteoblastos** (p. ej., la hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol [ver capítulo 44]) para pro-

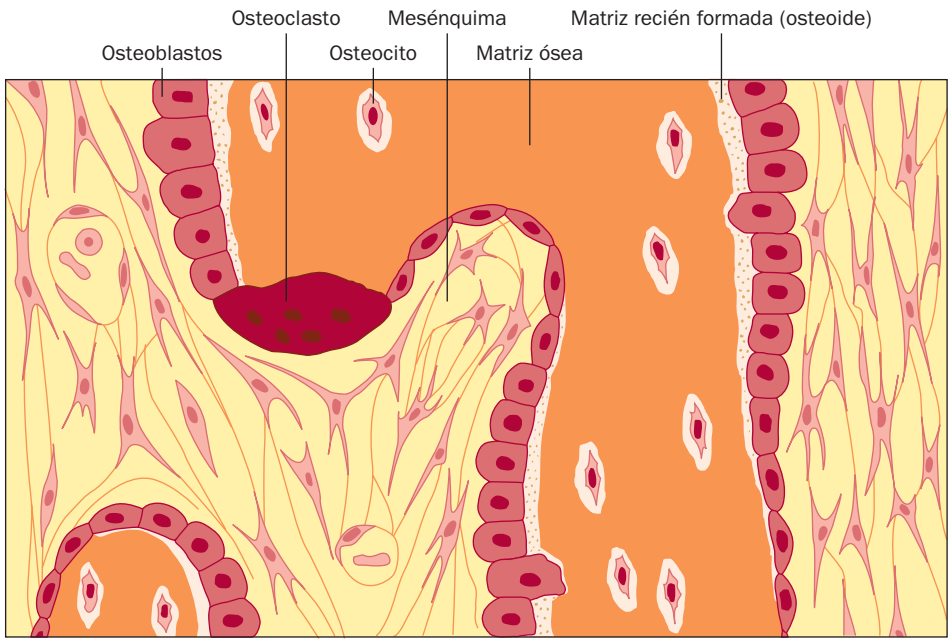


FIGURA 50-12 **Ilustración esquemática de las principales células presentes en el hueso membranoso.** Los osteoblastos (color más claro) están sintetizando colágeno tipo I, que forma una matriz que captura células. Cuando esto ocurre, los osteoblastos se diferencian gradualmente para convertirse en osteocitos. (Reproducido, con permiso, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas*, 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

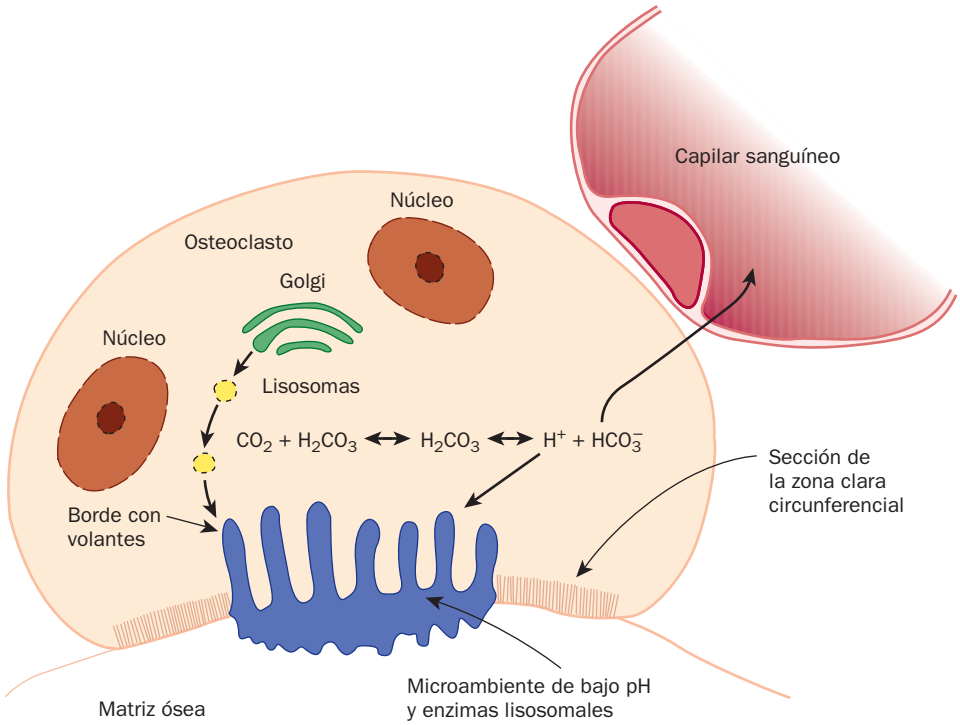


FIGURA 50-13 **Ilustración esquemática del papel del osteoclasto en la resorción ósea.** Las enzimas lisosomales y los iones de hidrógeno se liberan en el microambiente confinado creado por la unión entre la matriz ósea y la zona periférica clara del osteoclasto. La acidificación de este espacio confinado facilita la disolución del fosfato de calcio del hueso, y tiene el pH óptimo para la actividad de las hidrolasas lisosomales. Así se elimina la matriz ósea, y los productos de la resorción ósea se absorben en el citoplasma del osteoclasto donde probablemente se digieren más, y se transfieren a los capilares. La ecuación química mostrada se refiere a la acción de la anhidrasa carbónica II descrita en el texto. (Reproducido, con permiso, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas*, 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

mover la mineralización, mientras que otros la **inhiben** (p. ej., los corticosteroides). La hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol también estimulan la reabsorción ósea al aumentar la actividad de los osteoclastos, mientras que la calcitonina y los estrógenos tienen el efecto opuesto.

EL HUESO SE AFECTA POR MUCHOS TRASTORNOS METABÓLICOS Y GENÉTICOS

Varios trastornos metabólicos y genéticos afectan al hueso, y algunos de los ejemplos más importantes se enumeran en el cuadro 50-10.

La **osteogénesis imperfecta** (huesos frágiles) se caracteriza por la fragilidad anormal de los huesos. La esclerótica del ojo a menudo es anormalmente delgada y translúcida, y puede aparecer azul debido a una deficiencia de tejido conjuntivo. Se han reconocido **ocho tipos** (I-VIII) de esta condición. Los tipos I a IV son causados por mutaciones en los genes *COL1A1* o *COL1A2* o en ambos. El tipo I es leve, pero el tipo II es severo, y los bebés que nacen con esta afección por lo general no sobreviven; los tipos III y IV son progresivos y/o deformantes. Se han documentado más de 100 mutaciones en estos dos genes, e incluyen deleciones y duplicaciones parciales de genes. Otras mutaciones afectan el empalme de RNA, y el tipo más frecuente da como resultado el **reemplazo de la glicina** por otro aminoácido más voluminoso, que afecta la formación de la triple hélice. En general, estas mutaciones resultan en una expresión reducida de colágeno, o en pro-cadenas estructuralmente anormales, que se ensamblan en **fibrillas anormales** debilitando la estructura general del hueso. Cuando hay una cadena anormal presente, es capaz de interactuar con dos cadenas normales, pero puede evitar el plegamiento, lo que provoca la degradación enzimática de todas las cadenas. Esto se llama "**suicidio de procolágen**o" y es un ejemplo de una mutación dominante negativa, un resultado que se observa a menudo cuando una proteína consiste en múltiples subunidades diferentes. Los tipos V a VIII son menos comunes, y están causados por mutaciones en los genes de las proteínas involucradas en la mineralización ósea que no sea de colágeno.

La **osteopetrosis** (enfermedad de los huesos de mármol) caracterizada por un **aumento de la densidad ósea**, es una afección rara que se caracteriza por la incapacidad para reabsorber el hueso. Se debe a mutaciones en el gen (ubicado en el cromosoma 8q22) que **codifica la anhidrasa carbónica II** (CA II), una de las cuatro isoenzimas de la anhidrasa carbónica presente en los tejidos humanos. La deficiencia de CA II en los osteoclastos evita la reabsorción ósea normal y resulta en la osteopetrosis.

La **osteoporosis** es una reducción progresiva generalizada de la masa por unidad de volumen de tejido óseo, causada por un desequilibrio entre la resorción ósea y la deposición, y conduce a la debilidad esquelética. La afección primaria tipo 1 ocurre comúnmente en las mujeres después de la menopausia. Se cree que en lo principal esto se debe a la falta de estrógeno, que promueve la resorción ósea y disminuye la mineralización ósea. La osteoporosis primaria tipo 2, u osteoporosis senil, ocurre en ambos sexos después de los 75 años, aunque tiene mayor prevalencia en las mujeres (proporción 2:1 mujeres:hombres). La fracción de elementos **minerales** a **orgánicos** no cambia en el resto del hueso normal. Las fracturas de varios huesos, como la cabeza del fémur, ocurren muy fácilmente y representan una gran carga, tanto para los pacientes afectados como para la sociedad en general.

LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL CARTÍLAGO SON EL COLÁGENO TIPO II Y CIERTOS PROTEOGLICANOS

Hay tres tipos de cartílago. El tipo principal es el **cartílago hialino** (**articular**), y sus principales proteínas se enumeran en el cuadro 50-11. El **colágeno tipo II** es la principal proteína componente (figura 50-14), y también están presentes otros tipos menores de colágeno. Adicional a estos componentes el segundo tipo –el **cartílago elástico**– contiene elastina, y el tercero –el **cartílago fibroelástico**– contiene colágeno tipo I. El cartílago contiene varios proteoglica-

CUADRO 50-10 Algunas enfermedades metabólicas y genéticas que afectan el hueso y el cartílago

Condición	Causas	Condición	Causas
Enanismo	A menudo, deficiencia de la hormona del crecimiento, pero muchas otras causas	Osteoporosis	Asociada a la edad, deficiencia de estrógenos después de la menopausia, mutaciones en los genes que afectan el metabolismo óseo,[a] incluyendo el receptor de vitamina D (*VDR*), el α-receptor de estrógeno (*ER*-α) y el *COL1A1*
Raquitismo	Deficiencia de vitamina D en la infancia	Osteoartritis	Degeneración del cartílago relacionada con la edad, mutaciones en varios genes,[a] incluidos *VDR*, *ER*-α y *COL2A1*
Osteomalacia	Deficiencia de vitamina D en adultos	Condrodisplasias	Mutaciones en el *COL2A1*
Hiperparatiroidismo	Exceso de hormona paratiroidea que causa resorción ósea	Síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss y Crouzon[b]	Mutaciones en el gen del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) 1 y/o 2
Osteogénesis imperfecta	Mutaciones en *COL1A1* y *COL1A2* que afectan la síntesis y la estructura del colágeno	Acondroplasia y displasia tanatofórica[c]	Mutación en el gen para el FGFR3

[a] Sólo un pequeño número de casos.
[b] En los síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss, y Crouzon, existe una fusión prematura de algunos huesos en el cráneo (craneosinostosis).
[c] Displasia tanatofórica en la displasia esquelética letal neonatal más común.

CUADRO 50-11 Principales proteínas encontradas en el cartílago

Proteínas	Comentarios
Proteínas de colágeno	
Colágeno tipo II	90-98% del colágeno total del cartílago hialino. Compuesto de tres cadenas α1(II).
Colágenos V, VI, IX, X, XI	Tipo IX ligado cruzado al colágeno tipo II. El tipo XI puede ayudar a controlar el diámetro de las fibrillas tipo II.
Proteínas no colágenas	
Proteína de la matriz oligomérica del cartílago (COMP)	Un importante componente estructural del cartílago. Regula el movimiento y la adhesión celular.
Agrecano	El proteoglicano principal del cartílago.
DS-PG I (biglicano)[a] DS-PG II (decorina)	Similar al CS-PG I óseo Similar al CS-PG II óseo
Condronectina	Promueve la unión de los condrocitos al colágeno tipo II

[a] Las proteínas del núcleo de los proteoglicanos DS-PG I y DS-PG II son homólogas a las de CS-PG I y CS-PG II encontradas en el hueso. Una posible explicación es que los osteoblastos carecen de la epimerasa necesaria para convertir el ácido glucurónico en ácido idurónico; este último se encuentra en el dermatán sulfato.

nos, que desempeñan un papel importante en su compresibilidad. El **agrecano** (aproximadamente 2×10^3 kDa) es el proteoglicano principal. Como se muestra en la figura 50-15, tiene una estructura muy compleja que contiene varios GAG (ácido hialurónico, condoitrín sulfato y queratán sulfato) y ambas proteínas, de enlace y de núcleo. La proteína del núcleo contiene tres dominios: A, B y C. El ácido hialurónico se une en forma no covalente al dominio A de la proteína de núcleo, así como a la proteína de enlace, que estabiliza las interacciones de la proteína hialuronato-núcleo. Las cadenas de queratán sulfato están ubicadas en el dominio B, mientras que las cadenas de condoitrín sulfato están ubicadas en el dominio C; ambos tipos de GAG están unidos en forma covalente a la proteína de núcleo. La proteína de núcleo también contiene cadenas oligosacáridas *O*- y *N*-ligadas.

Los otros proteoglicanos que se encuentran en el cartílago tienen estructuras más simples que el agrecano.

La **condronectina** está involucrada en la unión del colágeno tipo II a los condrocitos (las células en el cartílago).

El cartílago es un tejido avascular y obtiene la mayoría de sus nutrientes del líquido sinovial. Exhibe una **regresión** lenta pero continua. Diversas **proteasas** sintetizadas por condrocitos (p. ej., las colagenasas y la estromelisina), pueden **degradar el colágeno** y a las otras proteínas que se encuentran en el cartílago. La interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral a (TNF-α) parecen estimular la producción de tales proteasas, mientras que el TGF-β y el factor de crecimiento 1 tipo insulina (IGF-I) usualmente ejercen una influencia anabólica en el cartílago.

LAS CONDROPLISPLASIAS SON CAUSADAS POR MUTACIONES EN LOS GENES QUE CODIFICAN LOS RECEPTORES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE COLÁGENO Y FIBROBLASTOS TIPO II

Las condrodisplasias son un grupo mixto de trastornos hereditarios que afectan el cartílago. Se manifiestan por enanismo de extre-

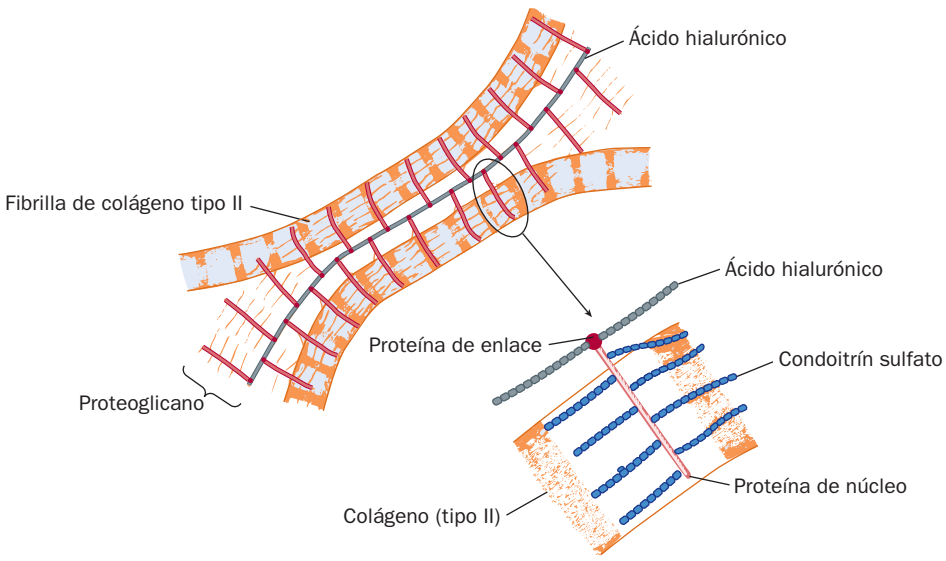


FIGURA 50-14 Representación esquemática de la organización molecular en la matriz del cartílago. Las proteínas de enlace unen en forma no covalente a la proteína del núcleo (rojo) de los proteoglicanos a las moléculas de ácido hialurónico lineal (gris). Las cadenas laterales de condoitrín sulfato del proteoglicano se unen electrostáticamente a las fibrillas de colágeno, formando una matriz reticulada. El óvalo delinea el área ampliada en la parte inferior de la figura. (Reproducido, con permiso, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas*, 10th ed. McGraw-Hill, 2003).

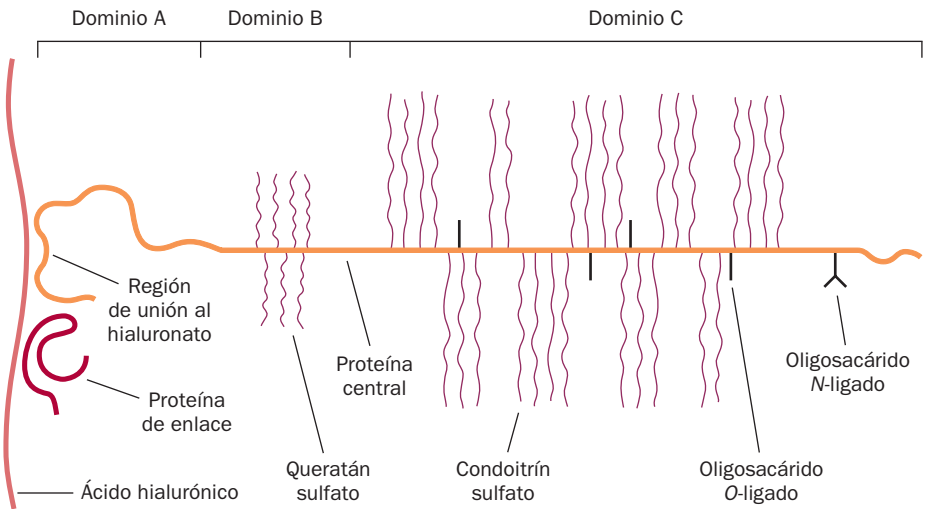


FIGURA 50-15 Diagrama esquemático de un agrecano. A la izquierda una hebra de ácido hialurónico. La proteína del núcleo (alrededor de 210 kDa) tiene tres dominios principales. El dominio A, en su extremo amino terminal, interactúa con aproximadamente cinco disacáridos repetidos en el hialuronato. La proteína de enlace interactúa tanto con el hialuronato como con el dominio A, estabilizando sus interacciones. Aproximadamente 30 cadenas de queratán sulfato se unen al dominio B mediante enlaces GalNAc-Ser. El dominio C contiene unas 100 cadenas de condoitrín sulfato, unidas mediante enlaces Gal-Gal-Xyl-Ser, y aproximadamente 40 cadenas oligosacáridas *O*-ligadas. También se encuentran una o más cadenas de glicanos *N*-ligadas cerca del terminal carboxilo de la proteína del núcleo. (Moran LA, *et al*: Biochemistry, 2nd ed., © 1994, págs. 9-43. Adaptado con permiso de Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, NJ).

midades cortas y numerosas deformidades esqueléticas. Algunas se deben a una variedad de mutaciones en el gen *COL2A1*, que conducen a formas anormales de colágeno tipo II. Un ejemplo es el **síndrome de Stickler**, que se manifiesta por la degeneración del cartílago articular y del cuerpo vítreo del ojo.

La más conocida de las condrodisplasias es la **acondroplasia**, la causa más común de **enanismo de extremidades cortas**. Las personas afectadas tienen extremidades cortas, tamaño normal del tronco, macrocefalia y una variedad de otras anormalidades esqueléticas. La condición a menudo se hereda como un rasgo autosómico dominante, pero muchos casos se deben a nuevas mutaciones. La acondroplasia no es un trastorno del colágeno, sino que se debe a mutaciones en el gen que codifica el **receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos** (**FGFR3**). Los **factores de crecimiento de fibroblastos** son una familia de más de 20 proteínas que afectan el crecimiento y la diferenciación de las células de origen mesenquimal y neuroectodérmico. Sus **receptores** son proteínas transmembrana, y forman un subgrupo de cuatro en la familia de receptores tirosina quinasas. La FGFR3 es un miembro de este subgrupo, y media la acción de la FGF3 en el cartílago. En casi todos los casos de acondroplasia que se han investigado, se descubrió que las mutaciones involucraban al nucleótido 1138, y daban como resultado la sustitución de la glicina por arginina (residuo número 380) en el dominio transmembrana de la proteína, volviéndola inactiva. No se encontró tal mutación en individuos no afectados.

Otras mutaciones en el mismo gen pueden provocar **hipocondroplasia**, **displasia tanatofórica** (tipos I y II) (otras formas de enanismo de extremidades cortas) y el **fenotipo SADDAN** (acondroplasia severa con retraso del desarrollo y acantosis nigricans –esta última es una hiperpigmentación de marrón a negra de la piel–).

Como se indica en el cuadro 50-10, **otras displasias esqueléticas** (incluidos ciertos síndromes de craneosinostosis) también se deben a mutaciones en genes que codifican receptores de FGF. Se ha encontrado que otro tipo de displasia esquelética, la **displasia diastrófica**, se debe a una mutación en un transportador de sulfato.

RESUMEN

- Las principales componentes de la ECM son las proteínas estructurales colágeno, elastina y fibrilina-1, varias proteínas especializadas (p. ej., fibronectina y laminina) y diversos proteoglicanos.
- El colágeno es la proteína más abundante en el reino animal; se han aislado aproximadamente 28 tipos. Todos los colágenos contienen tramos mayores o menores de triple hélice, y la estructura repetitiva (Gly-X-Y)*n*.
- La biosíntesis del colágeno es compleja y presenta muchos eventos postranslacionales, incluida la hidroxilación de la prolina y la lisina.
- Las enfermedades asociadas con la síntesis alterada del colágeno incluyen el escorbuto, la osteogénesis imperfecta, el síndrome de Ehlers-Danlos (seis subtipos) y la enfermedad de Menkes.
- La elastina confiere extensibilidad y retroceso elástico a los tejidos. La elastina carece de hidroxilisina, secuencias de Gly-X-Y, estructura de triple hélice y azúcares, pero contiene enlaces cruzados de desmosina e isodesmosina que no se encuentran en el colágeno.
- La fibrilina-1 se encuentra en las microfibrillas. Las mutaciones en el gen que codifica la fibrilina-1 causan el síndrome de Marfan. La citocina TGF-β parece contribuir a la patología cardiovascular.
- Los GAG se componen de disacáridos repetidos que contienen un ácido urónico (glucurónico o idurónico) o hexosa (galactosa) y una hexosamina (galactosamina o glucosamina). Con frecuencia el sulfato también está presente.
- Los principales GAG son ácido hialurónico, condroitín 4- y 6-sulfatos, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato.

- Los GAG se sintetizan mediante acciones secuenciales de enzimas específicas (glucosiltransferasas, epimerasas, sulfotransferasas, etc.) y se degradan por la acción secuencial de las hidrolasas lisosómicas. Las deficiencias genéticas de este último producen mucopolisacaridosis (p. ej., síndrome de Hurler).
- Los GAG se producen en tejidos unidos a diversas proteínas (proteínas enlazadoras y proteínas del núcleo), que constituyen proteoglicanos. Estas estructuras son a menudo de muy alto peso molecular y cumplen muchas funciones en los tejidos.
- Muchos componentes de la ECM se unen a las integrinas, proteínas que se encuentran en la superficie de la célula, y esto constituye una vía por la cual el exterior de la célula se puede comunicar con el interior.
- El hueso y el cartílago son formas especializadas de la ECM. El colágeno I y la hidroxiapatita son los principales componentes del hueso. El colágeno II y ciertos proteoglicanos son componentes principales del cartílago.
- Varias enfermedades hereditarias del hueso (por ejemplo, osteogénesis imperfecta), y del cartílago (por ejemplo, las condrodistrofias), son causadas por mutaciones en los genes de colágeno y de las proteínas implicadas en la mineralización ósea y la formación de cartílago.

REFERENCIAS

Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP: Collagens at a glance. J Cell Sci 2007;120:1955.

Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL *et al*: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19th ed. McGrawHill Education, 2017.

Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (editors): *Te Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Este comprensivo texto de cuatro volúmenes y la versión en línea actualizada [www.ommbid.com] contiene capítulo de desórdenes en la estructura y biosíntesis del colágeno, síndrome de Marfan, la mucopolisacaridosis, acondroplasia, síndrome de Alport, y síndromes de craneosinostosis).

Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP: *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*. Academic Press, 2006.

CAPÍTULO 51

Músculo y citoesqueleto

Peter J. Kennelly, PhD
y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las diferencias entre la regulación basada en actina y la regulación basada en miosina en la contracción muscular.
- Resumir la composición y organización de los filamentos gruesos y finos en los tejidos musculares estriados.
- Describir el papel fundamental del Ca^{2+} en el inicio tanto de la contracción como de la relajación muscular.
- Enumerar los diversos canales, bombas e intercambiadores involucrados en la regulación de los niveles intracelulares de Ca^{2+} en los diversos tipos de músculo.
- Enumerar las principales fuentes de energía para regenerar ATP en el tejido muscular.
- Identificar las fuentes de energía preferidas para las fibras de contracción rápida y lenta.
- Comprender las bases moleculares de la hipertermia maligna, las distrofias musculares de Duchenne y Becker y las miocardiopatías hereditarias.
- Explicar cómo el óxido nítrico (NO) induce la relajación del músculo liso vascular.
- Conocer las estructuras y funciones generales de los principales componentes del citoesqueleto, concretamente, microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios.
- Explicar el papel de las mutaciones en el gen que codifica la lámina A y la lámina en el síndrome de progeria Hutchinson-Gilford (**progeria**).

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La forma, la integridad y la organización interna de todas las células de mamíferos se mantienen mediante una red interna de fibras de proteínas poliméricas y motores moleculares asociados llamada **citoesqueleto**. Esta red estructural y mecánica interviene en procesos motrices como la citoquinesis, la endocitosis, la exocitosis, la secreción, la fagocitosis y la diapédesis. Varios microorganismos patógenos, entre ellos *Yersinia*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y *Shigella* atacan o co-optan por el citoesqueleto del hospedero infectado como parte integral de sus mecanismos de virulencia.

Las células musculares altamente especializadas elaboran extensas redes internas que consisten en polímeros de **actina** y **miosina** yuxtapuestos físicamente, o fibrillas, que forman el núcleo de su aparato contráctil. Este mecanismo contráctil mecánicamente poderoso está controlado por vías de transducción de señales en las que el segundo mensajero **Ca^{2+}** desempeña un papel fundamental. El tejido muscular está sujeto a una variedad de afecciones patológicas, muchas de ellas de naturaleza hereditaria, incluida la distrofia muscular tipo Duchenne; la hipertermia maligna, una complicación grave para algunos pacientes sometidos a ciertos tipos de anestesia, y las cardiomiopatías. La **insuficiencia cardiaca** es una condición médica muy común, con una variedad de causas. Su terapia racional requiere la comprensión de la bioquímica del músculo cardiaco. Por ejemplo, muchos **vasodilatadores** muy usados —como la nitroglicerina, usada en el tratamiento de la angina de pecho— actúan a través del incremento de la formación de NO.

EL MÚSCULO ES UN TEJIDO ESTRUCTURAL Y FUNCIONALMENTE ESPECIALIZADO

Existen tres tipos de tejido muscular: esquelético, cardiaco y liso

El músculo es un tejido altamente especializado configurado para convertir la energía química del potencial de ATP en energía mecánica, en una escala macroscópica, masiva. En los vertebrados se encuentran tres tipos de músculos. Los tejidos musculares **esquelético** y **cardiaco** muestran una apariencia estriada, una consecuencia de la alineación paralela de las fibrillas de su aparato contráctil. El músculo **liso** está desprovisto de estrías, una consecuencia de la orientación (más) aleatoria de sus fibrillas contráctiles. Mecánicamente, estas diferencias en la orientación significan que el músculo cardiaco y el esquelético se contraen y ejercen fuerza en una sola dimensión, como un resorte en espiral, mientras que las contracciones del músculo liso contráctil ejercen fuerza y se acortan en todas las direcciones, como la piel de polímero de un globo inflado. El músculo esquelético también se encuentra bajo el control nervioso consciente o **voluntario**, mientras que el músculo cardiaco y el músculo liso funcionan de manera inconsciente e **involuntaria**.

El sarcómero es la unidad funcional del músculo

El músculo estriado está compuesto por células de fibra muscular multinucleadas, que pueden extenderse a lo largo de todo el músculo, rodeadas por una membrana plasmática eléctricamente excitable, el **sarcolema**. Dentro de cada célula de fibra muscular individual orientada longitudinalmente hay haces de **miofibrillas** paralelas a lo largo de su longitud, que consisten en filamentos gruesos y finos superpuestos, interdigitados, incrustados en el fluido intracelular denominado **sarcoplasma**. Cuando se examina una **miofibrilla** por microscopía electrónica, con alternancia de oscuridad y luz se pueden observar bandas (véase **figura 51-1**).

Estas bandas se conocen como **bandas A** e **I**, respectivamente. En la banda A, los filamentos finos están dispuestos alrededor del filamento grueso (miosina) como una serie hexagonal secundaria. Cada filamento fino yace simétricamente entre tres filamentos gruesos (véase **figura 51-2**, centro, sección transversal media), y cada filamento grueso está rodeado simétricamente por seis filamentos finos. La región central de la banda A, una región aparentemente menos densa conocida como **banda H**, consiste en su totalidad de filamentos gruesos. La banda I corresponde a una zona que contiene sólo filamentos finos, y está dividida en dos por la **línea Z** densa y estrecha, que consiste en una red compleja de polipéptidos que unen los filamentos finos (consúltese figura 51-2).

El **sarcómero** se define como la región entre dos líneas Z (véanse figuras 51-1 y 51-2) y se repite a lo largo del eje de una fibrilla a distancias de 1 500 a 2 300 nm en dependencia del estado de contracción. La mayoría de las células de fibra muscular están alineadas de modo que sus sarcómeros están en un registro paralelo (obsérvese figura 51-1).

Los filamentos finos y gruesos se deslizan entre sí durante la contracción

El modelo de filamento deslizante se basó en gran parte en cuidadosas observaciones morfológicas del músculo en estado de reposo, extendido y contraído. Cuando el músculo se contrae, las zonas H y las bandas I se acortan (véase la leyenda de la figura 51-2). Dado que los filamentos gruesos y finos permanecen intactos, se obtuvo como conclusión que los filamentos interdigitados se deslizan entre sí durante la contracción. Como la tensión desarrollada

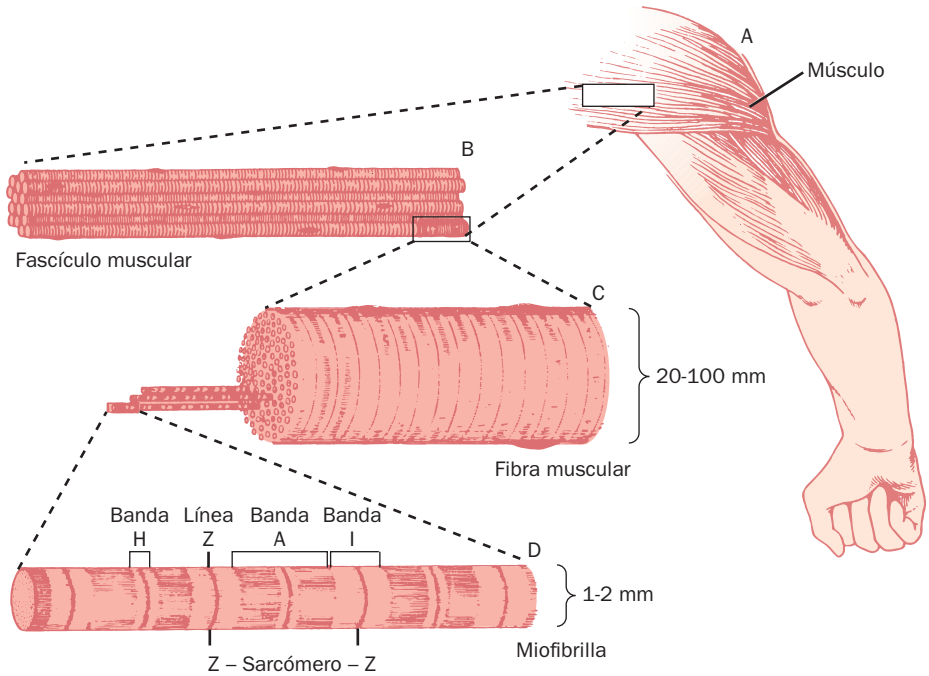


FIGURA 51-1 La estructura del músculo voluntario. El sarcómero es la región entre las líneas Z. (Dibujo de Sylvia Colard Keene. Reproducido con permiso de Bloom W, Fawcett DW: *A Textbook of Histology*. 10ma ed. Saunders; 1975).

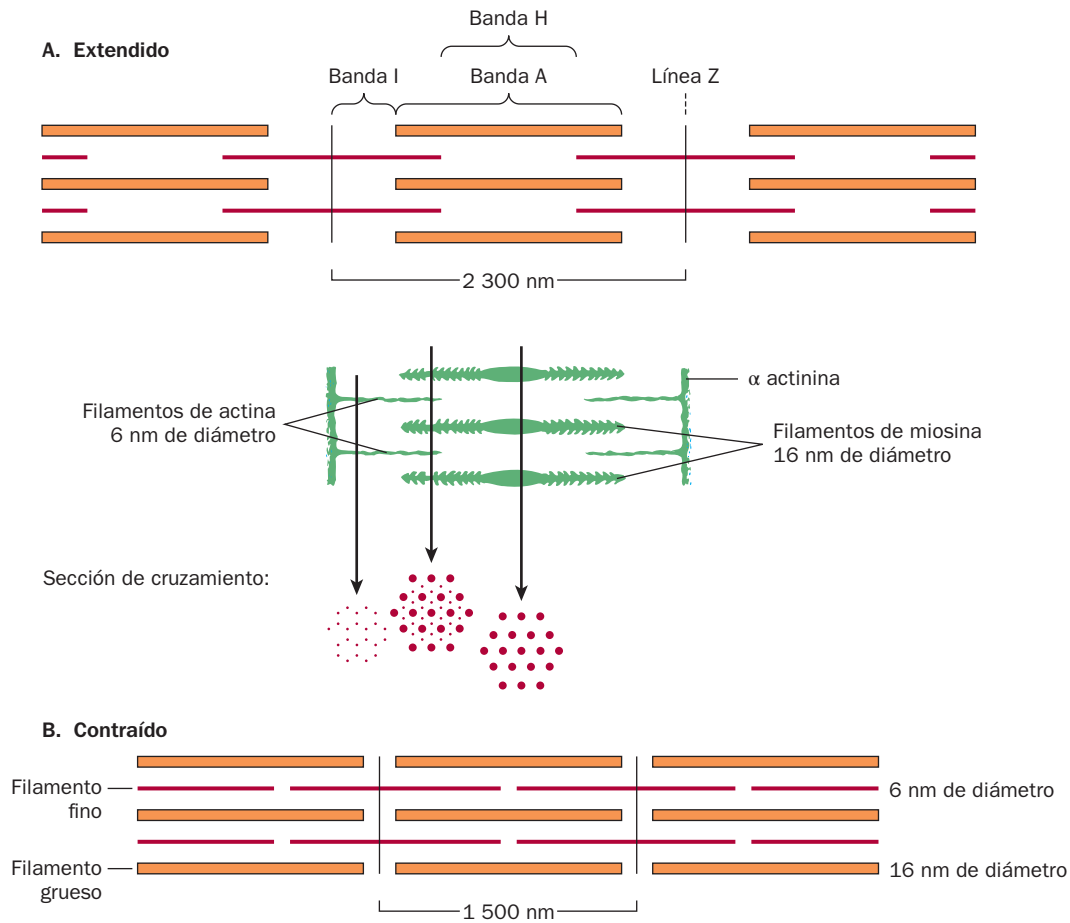


FIGURA 51-2 Disposición de los filamentos en el músculo estriado. A) Extendido. Se muestran las posiciones de las bandas I, A y H en el estado extendido. Los filamentos finos se superponen parcialmente en los extremos de los filamentos gruesos, y los filamentos finos se muestran anclados en las líneas Z (a menudo llamadas discos Z). En la parte inferior de la figura 51-2A, se muestran "puntas de flecha" apuntando en direcciones opuestas, que emanan de los filamentos de miosina (gruesos). Se muestran cuatro filamentos de actina (finos) unidos a dos líneas Z mediante α actinina. La región central de los tres filamentos de miosina, libres de puntas de flecha, se denomina banda M (no marcada). Se muestran secciones de cruzamiento a través de las bandas M, a través de un área donde los filamentos de miosina y actina se superponen y a través de un área en la que están presentes únicamente los filamentos de actina. B) Contraído. Se observa que los filamentos de actina se han deslizado a lo largo de los lados de las fibras de miosina unas hacia las otras. Las longitudes de los filamentos gruesos (indicados por las bandas A) y los filamentos finos (distancia entre las líneas Z y los bordes adyacentes de las bandas H) no han cambiado. Sin embargo, las longitudes de los sarcómeros se han reducido (de 2 300 a 1 500 nm), y las longitudes de las bandas H e I también se reducen debido a la superposición entre los filamentos gruesos y finos. Estas observaciones morfológicas proporcionaron parte de la base del modelo de filamento deslizante de la contracción muscular.

durante la contracción muscular es proporcional al grado en que los filamentos se superponen, era evidente que la contracción implicaba una interacción dinámica entre los filamentos a través de la cual estos tiraban activamente unos de otros.

ACTINA Y MIOSINA

La actina y miosina representan 75% de la masa de proteína en el músculo

La actina y la miosina contribuyen con 20 y 55% de la masa de proteína en el músculo, respectivamente. La forma monomérica de la actina, **Actina G** (43 kDa; G, globular) se polimeriza en presencia de Mg^{2+} para formar un filamento de doble hélice insoluble llamado Actina F. (véase **figura 51-3**).

La fibra **Actina F,** también conocida como filamento fino**,** tiene de 6 a 7 nm de grosor y una estructura que se repite cada 35.5 nm. Los humanos contienen genes que codifican 12 clases de miosinas. La distribución tisular y las cantidades relativas de estas isoformas de miosina pueden variar en diferentes situaciones anatómicas, fisiológicas y patológicas.

La **miosina I**, que existe en las células como un monómero, vincula los microfilamentos del citoesqueleto a la membrana plasmática. La forma predominante de miosina en los tejidos contráctiles es la **miosina II**, de ahora en adelante referida simplemente como miosina, un hexámero asimétrico con una masa molecular de ≈460 kDa. El hexámero consiste en un par de **cadenas pesadas** (**H [*heavy*]**) de 200 kDa y dos pares de **cadenas ligeras** (**L [*light*]**), denominadas esenciales y reguladoras, cada una con una masa molecular de ≈20 kDa. Las dos cadenas pesadas se entrelazan, formando una

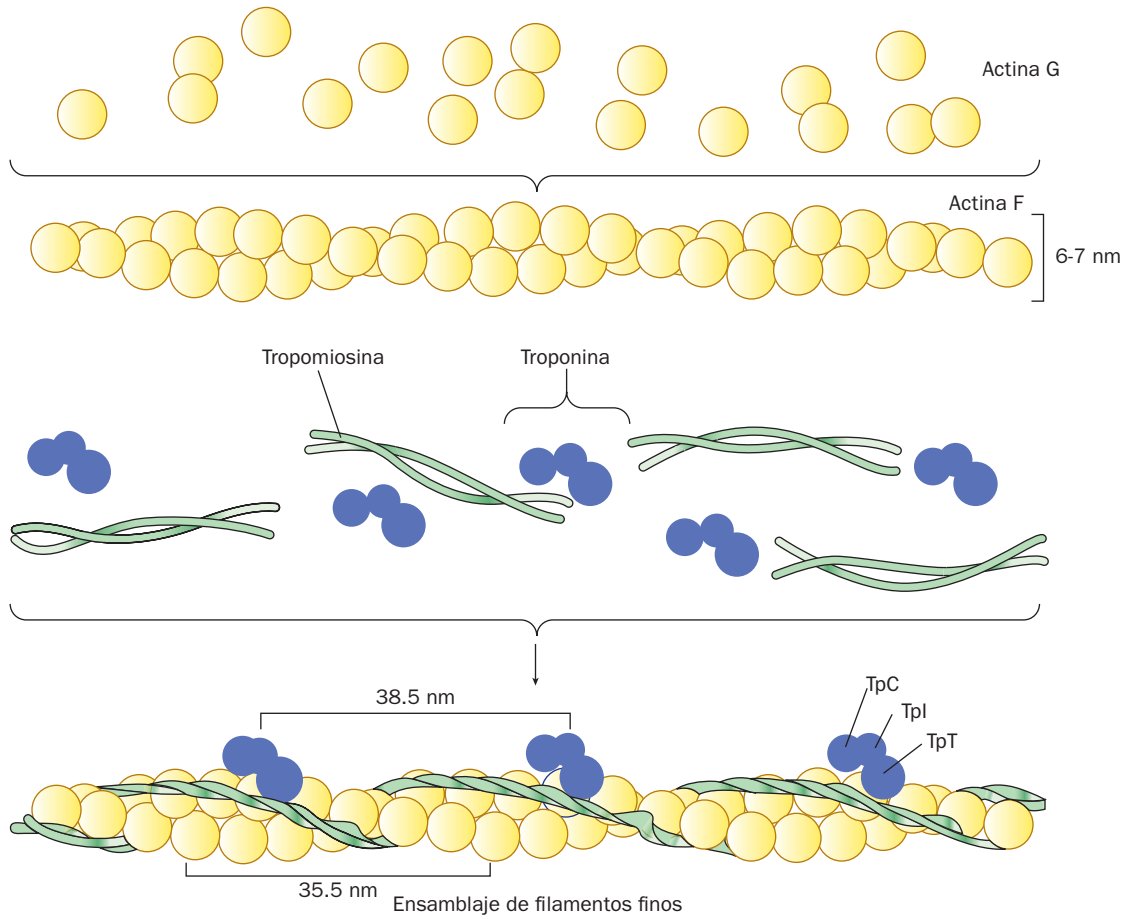


FIGURA 51-3 Representación esquemática del filamento fino, que muestra la configuración espacial de sus tres principales componentes proteicos: actina, troponina y tropomiosina. El panel superior muestra moléculas individuales de Actina G. El panel del medio muestra los monómeros de actina ensamblados en Actina F. Moléculas individuales de tropomiosina (dos hebras enrolladas una alrededor de la otra) y de troponina (formadas de sus tres subunidades) también se muestran. El panel inferior muestra el filamento fino ensamblado, que consiste en Actina F, tropomiosina, y las tres subunidades de troponina (TpC, TpI y TpT).

cola helicoidal extendida, cada una coronada por un dominio de cabeza globular al cual se asocian las cadenas ligeras (véase **figura 51-4**). La miosina posee niveles bajos, pero detectables, de actividad de **ATPasa** *in vitro*: la catálisis de la hidrólisis de ATP por agua para formar ADP y P_i. Los niveles bajos de actividad de ATPasa son una característica común de las enzimas que emplean ATP como sustrato. Cuando la miosina del músculo esquelético se complejiza con la actina para formar el complejo **actomiosina**, su actividad ATPasa aumenta en gran medida.

La organización estructural y funcional de la miosina fue mapeada por proteólisis limitada

La tendencia de la miosina a polimerizarse en condiciones fisiológicas frustra los intentos de mapear su organización de dominio. Por tanto, los investigadores recurrieron a la **proteólisis limitada**, una técnica en la que las proteínas se tratan con pequeñas cantidades de enzimas proteolíticas durante periodos cortos. El objetivo de este método es capturar dominios proteicos individuales que han sido liberados mediante la hidrólisis de los enlaces peptídicos a menudo altamente susceptibles presentes en las regiones flexibles "bisagra" que unen dominios funcionales individuales.

La proteólisis limitada con **tripsina** produjo dos fragmentos de miosina llamados meromiosina ligera (LMM, *light meromyosin*) y meromiosina pesada (HMM, *heavy meromyosin*). La meromiosina ligera consiste en fibras α-helicoidales agregadas de la cola de la miosina (consúltese figura 51-4). No hidroliza ATP o se une a la Actina F. Por el contrario, HMM es una proteína de ≈340 kDa soluble que posee regiones fibrosas y globulares (véase figura 51-4). HMM exhibe actividad ATPasa y se une a Actina F. La proteólisis limitada de HMM con papaína la divide en dos subfragmentos, S-1 y S-2, que abarcan las regiones globulares y fibrosas, respectivamente. Sólo el fragmento globular **S-1**, ≈115 kDa, exhibe actividad de ATPasa y se une a las cadenas ligeras de actina y miosina (véase figura 51-4).

La tropomiosina y las troponinas son componentes clave de los filamentos finos en el músculo estriado

En el músculo estriado, hay otras dos proteínas que son menores en términos de masa, pero importantes por su función. La **tropomiosina** es una molécula fibrosa que consta de dos cadenas, α y β, que se unen a la Actina F en el surco entre sus filamentos (consúltese figura 51-3). La tropomiosina está presente en todas las estruc-

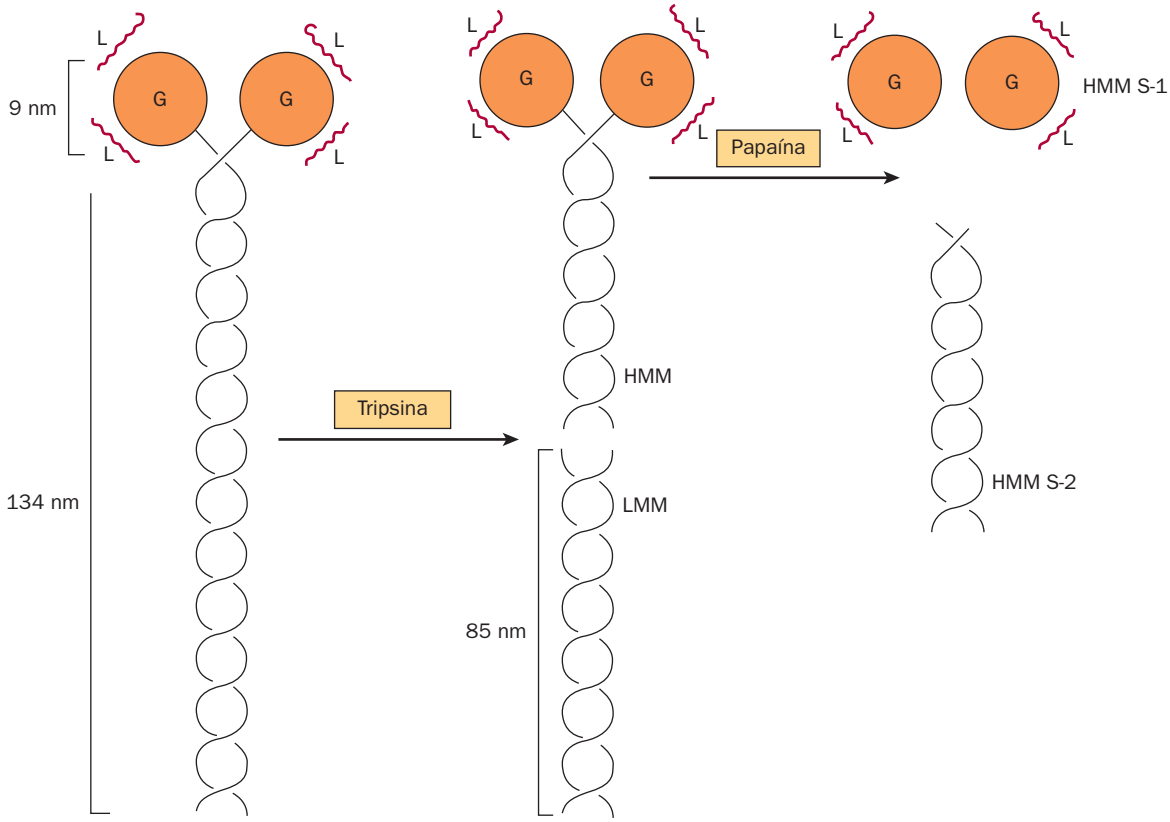


FIGURA 51-4 **Diagrama de una molécula de miosina que muestra las dos hélices α entrelazadas (porción fibrosa), la región o cabeza globular (G), las cadenas ligeras (L) y los efectos de la escisión proteolítica por tripsina y papaína.** La región de la cabeza globular, que contiene un sitio de unión a la actina y un sitio de unión a la cadena L, se une al resto de la molécula de miosina.

turas musculares y en estructuras semejantes a las musculares. El **complejo de troponina** es único para el músculo estriado y consta de tres polipéptidos. La **troponina T** (TpT) se une a la tropomiosina, así como a los otros dos componentes de la troponina. La **troponina I** (TpI) inhibe la interacción Actina F-miosina y también se une a los otros componentes de troponina. La **troponina C** (TpC) es un polipéptido de unión a calcio que es estructural y funcionalmente análogo a la **calmodulina**, una importante proteína de unión a calcio de amplia distribución en la naturaleza. Hasta cuatro iones de calcio pueden unirse por molécula de troponina C o calmodulina, las cuales tienen una masa molecular de ≈17 kDa.

EL MÚSCULO CONVIERTE LA ENERGÍA QUIMICA EN ENERGÍA MECÁNICA

La contracción muscular se produce cuando los filamentos gruesos se desplazan a lo largo de los filamentos finos adyacentes por un proceso análogo al ascenso por una cuerda mano sobre mano. Las manos en este caso son los dominios S-1 de la cabeza de miosina, que ascienden a través de un ciclo repetido de fijación, un cambio conformacional impulsado por ATP o **golpe eléctrico**, y desprendimiento. Aunque individualmente son diminutos en términos tanto de distancia recorrida como de energía desatada, multiplicados por 1-2 × 10^{18} moléculas de miosina en un bíceps humano, se puede generar una gran fuerza y un movimiento rápido.

En la **figura 51-5** se presenta un diagrama esquemático del ciclo de eventos involucrados en cada golpe eléctrico.

En reposo, la cabeza de miosina S-1 contiene la unión de ADP y P_i, restos del último golpe eléctrico previo. Tras la estimulación

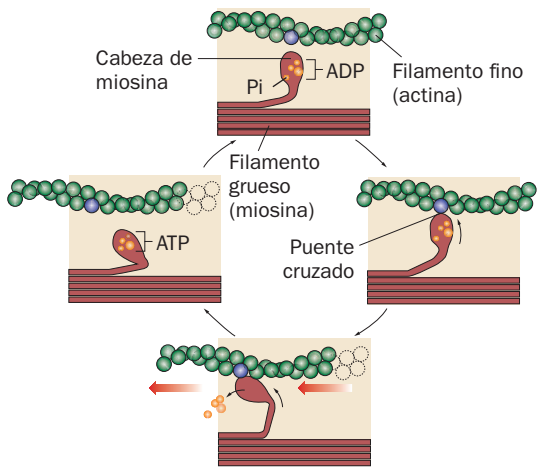


FIGURA 51-5 **La hidrólisis de ATP impulsa la asociación cíclica y la disociación de actina y miosina en cinco reacciones descritas en el texto.** (Reproducido con permiso de McGraw-Hill Higher Education.)

por el segundo mensajero Ca^{2+} (véase más abajo), la actina se vuelve accesible para la cabeza de miosina S-1 que la encuentra y la une, y se forma así un **puente cruzado** uniendo los filamentos gruesos y finos que están espaciados a intervalos de 14 nm a lo largo de los filamentos gruesos. Como se muestra en la figura 51-2, los grupos de puentes cruzados (abreviados como puntas de flecha con el resto de los filamentos finos no ilustrados) en los extremos de un filamento grueso tienen polaridades opuestas. Las dos regiones polares del filamento grueso están separadas por un segmento de 150 nm (la banda M, no marcada en la figura) que no participa en la formación de puentes cruzados.

Una vez que se forma el complejo de puente cruzado actina:miosina:ADP:P_i, se libera el P_i enlazado. A ello le sigue la liberación del ADP unido, lo que desencadena un gran cambio conformacional en la cabeza de la miosina en relación con su cola (véase **figura 51-6**), el golpe eléctrico, que tira de la actina alrededor de 10 nm hacia el centro del sarcómero. Este complejo actina-miosina libre de nucleótidos representa su estado de baja energía.

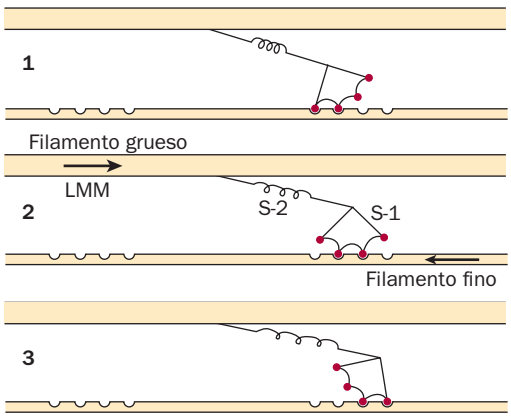


FIGURA 51-6 Representación de puentes de cruzamiento activo entre filamentos gruesos y finos. Este diagrama fue adaptado por AF Huxley tomado de HE Huxley. The mechanism of muscular contraction. *Science* 1969;164:1356. El último propuso que la fuerza involucrada en la contracción muscular se origina en una tendencia a que la cabeza de la miocina (S-1) rote en relación con el filamento fino es trasmitida al filamento grueso por la porción S-2 de la molécula de miosina que actúa como un enlace inextensible. Los puntos flexibles en cada tramo de S-2 permiten a S-1 rotar y permiten las variaciones en la separación entre los filamentos. Esta figura está basada en la propuesta de HE Huxley, y también incorpora elementos elásticos (las colas en la porción S-2) y de acortamiento gradual ilustrados aquí como cuatro sitios de interacción entre la porción S-1 y el filamento fino) (véase Huxley AF, Simmons RM. Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature* [Lond] 1971;233:533.) Las fuerzas de unión de los sitios adjuntos son mayores en la posición 2 que en la posición 1 y mayor en la posición 3 que en la posición 2. La cabeza de la miosina puede desprenderse de la posición 3 con la utilización de una molécula de ATP; este es el proceso predominante durante el acortamiento. La cabeza de miosina es vista para variar en su posición desde cerca de 90° a 45°, como se indica en el texto. (S-1: cabeza de miosina; S-2: porción de la molécula de miosina; LMM: meromiosina ligera (véase la leyenda en la figura 49-4). (Tomado de Huxley AF. Muscular contraction. *J Physiol* 1974;243:1. Con permiso del autor y del *Journal of Physiology*).

A continuación, una molécula de ATP se une a la cabeza S-1, lo que reduce de manera drástica la afinidad de la cabeza de miosina por la actina. La actina se libera o se separa. Finalmente, en la **fase de relajación** de la contracción muscular, la cabeza de miosina S-1 hidroliza ATP a ADP y P_i, pero estos productos permanecen unidos. La hidrólisis de ATP a ADP-P_i-miosina aumenta la miosina en la denominada conformación de alta energía. El complejo de miosina:ADP:P_i ahora está listo para participar en otro ciclo y moverse otros 10 nm a lo largo de los filamentos finos, siempre que los niveles de Ca^{2+} se mantengan elevados.

Los cálculos han indicado que la eficiencia termodinámica de la contracción muscular es aproximadamente de 50%, lo que se compara bastante favorablemente con 20% o menos del motor de combustión interna. También se debe tener en cuenta que, aunque la hidrólisis del ATP en última instancia impulsa el ciclo, la liberación de ADP proporciona el impulso inmediato para el cambio conformacional en S-1 que traduce la energía química en el golpe de potencia mecánico. El ***rigor mortis***, la rigidez del cuerpo que ocurre *post mortem*, se debe a que la caída resultante en los niveles intracelulares de ATP evita la disociación de la cabeza de la miosina S-1 de la actina.

LA CONTRACCIÓN ES ORQUESTADA POR EL SEGUNDO MENSAJERO CA^{2+}

La contracción de los músculos de todas las fuentes ocurre por el mecanismo general descrito anteriormente. Sin embargo, la manera en que se regula la contracción difiere entre los diversos tipos de tejido muscular. El músculo estriado depende de la regulación **basada en actina**, mientras que la regulación en el músculo liso está **basada en miosina**. Sin embargo, independientemente de si la regulación es basada en actina o miosina, el segundo mensajero Ca^{2+} desempeña un papel central en el inicio y el control de la contracción.

La regulación basada en actina se produce en el músculo esquelético

El aparato contráctil en el músculo esquelético está regulado por el **sistema de troponina**, que se une a la tropomiosina y a la Actina F en el filamento fino (véase figura 51-3). Por tanto, se dice que la regulación del músculo esquelético se basa en actina. En el músculo en reposo, TpI impide la unión de la cabeza de miosina a su sitio de unión a Actina F al alterar la conformación de la Actina F a través de las moléculas de tropomiosina o simplemente al enrollar la tropomiosina en una posición que bloquea directamente los sitios en la Actina F a la cual se unen las cabezas de miosina. La unión de Ca^{2+} a TpC alivia la inhibición por TpI y conduce a que continúe el ciclo del golpe eléctrico. Cuando los niveles de Ca^{2+} disminuyen, el complejo TpC:Ca^{2+} se disocia, lo que permite a TpI restablecer su bloqueo inhibitorio sobre la unión de la cabeza de miosina S-1 a la Actina F. Los filamentos gruesos y finos se desprenden el uno del otro, lo que permite que el músculo se relaje.

La regulación basada en miosina se produce en el músculo liso

Los **músculos lisos** tienen estructuras moleculares similares a las del músculo estriado, pero los sarcómeros no están alineados para generar la apariencia estriada. Los músculos lisos contienen mo-

léculas de α-actinina y tropomiosina, al igual que los músculos esqueléticos, pero carecen del sistema de troponina. Las cadenas ligeras de las moléculas de miosina del músculo liso también difieren de las de la miosina de músculo estriado. En el músculo liso, son las cadenas ligeras las que evitan la unión de la cabeza de miosina a la Actina F en el estado de reposo. Este bloqueo inhibitorio es liberado por la fosforilación de las cadenas ligeras reguladoras, o tipo 2, en la cabeza de miosina S-1 por la miosina cadena ligera cinasa.

La actividad de la miosina cadena ligera cinasa está controlada mediante la unión de la pequeña proteína de unión a Ca^{2+}, ≈17 kDa, calmodulina (consúltese **figura 51-7**).

La calmodulina es una proteína ubicua que contiene cuatro motivos mano EF, cada uno de los cuales puede unir una molécula de calcio. La unión de calcio a estos cuatro sitios desencadena un cambio conformacional que permite al complejo $C^{2+}{}_4$:calmamodulina unirse y activar varias enzimas blanco intracelulares, incluidas la miosina cadena ligera cinasa y Ca^{2+}-ATPasa (véase a continuación). La unión de Ca^{2+} a la calmodulina exhibe una cooperatividad positiva fuerte, que la optimiza para que sirva como disparador molecular sensible al Ca^{2+}. Cuando caen los niveles de Ca^{2+}, el equilibrio de actividad entre la miosina cadena ligera cinasa y las fosfatasas se desplaza a favor de este último, lo que conduce a la desfosforilación de las cadenas ligeras reguladoras, la separación de dominios de miosina S-1 de la actina y la relajación muscular.

La **cinasa Rho** proporciona una vía independiente de Ca^{2+} para iniciar la contracción. La cinasa Rho no sólo fosforila las cadenas ligeras reguladoras de la miosina, sino que también fosforila la fosfatasa que las defosforila. Como la fosforilación de la fosfatasa inhibe su actividad, esto sirve para desplazar aún más el equilibrio entre las cinasas y las fosfatasas que actúan sobre la miosina a favor de la primera. El **cuadro 51-1** resume y compara la regulación de las interacciones actina-miosina (activación de miosina ATPasa) en los músculos estriados y lisos.

Otra proteína que parece desempeñar un rol dependiente de Ca^{2+} en la regulación de la contracción del músculo liso es la **desmón** (87 kDa). Esta proteína es ubicua en el músculo liso y también se encuentra en el tejido no muscular. A bajas concentraciones de Ca^{2+}, se une a tropomiosina y actina. Esto evita la interacción

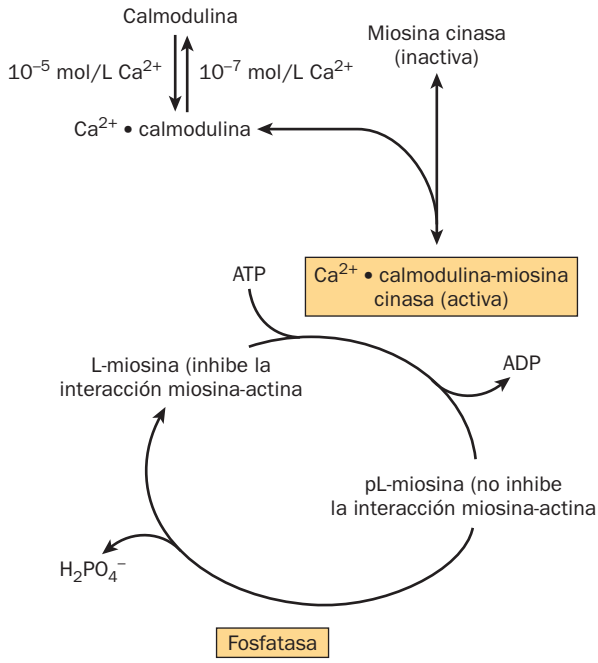


FIGURA 51-7 Regulación de la contracción del músculo liso por Ca^{2+}. La pL-miosina es la cadena ligera fosforilada de miosina y L-miosina es la cadena ligera desfosforilada. (Adaptado con permiso de Adelstein RS, Eisenberg R. Regulation and kinetics of actin–myosin ATP interaction. *Annu Rev Biochem* 1980;49:921.Copyright © 1980 by Annual Reviews, www.annualreviews.org).

CUADRO 51-1 Interacciones actina-miosina en el músculo estriado y liso

	Músculo estriado	Músculo liso (y células no musculares)
Proteínas de filamentos musculares	Actina Miosina Tropomiosina Troponina (Tpl, TpT, TpC)	Actina Miosina[a] Tropomiosina
Interacción espontánea de Actina F y miosina sola (activación espontánea de miosina ATPasa por Actina F)	Sí	No
Interacción del inhibidor de Actina F-miosina (inhibidor de F actina dependiente de activación de ATPasa)	Sistema de troponina (Tpl)	Miosina desfosforilada de cadena ligera
Contracción activada por	Ca^{2+}	Ca^{2+}
Efecto directo de Ca^{2+}	$4Ca^{2+}$ se une a TpC	$4Ca^{2+}$ se une a calmodulina
Efecto de la unión de Ca^{2+} a proteína	TpC · $4Ca^{2+}$ antagoniza la inhibición Tpl de la interacción de Actina F-miosina (permite activación de Actina F de ATPasa)	Calmodulina · $4Ca^{2+}$ activa la cinasa de la cadena ligera de miosina que fosforila la miosina p de cadena ligera. La cadena p fosforilada no inhibe más la interacción Actina F-miosina (permite la activación Actina F de ATPasa.

[a] Las cadenas ligeras de miosina son diferentes en los músculos estriados y lisos.

de la actina con la miosina y mantiene los músculos en un estado relajado. En concentraciones más altas de Ca^{2+}_4:calmodulina unida a caldesmón, liberándolo de la actina. Este último es libre de unirse a miosina, y puede ocurrir la contracción. El caldesmón también está sujeto a fosforilación-desfosforilación; cuando se fosforila, no puede unir actina, liberando de nuevo a esta última para interactuar con miosina.

El retículo sarcoplasmático regula los niveles intracelulares de Ca^{2+} en el músculo esquelético

Cuando el músculo estriado está en estado de reposo, el Ca^{2+} necesario para iniciar la contracción permanece almacenado, listo para su liberación en el sarcoplasma, dentro de una red de sacos fibrosos de la membrana –el **retículo sarcoplasmático** o **SR** (***sarcoplasmic reticulum***)–. El SR está vinculado a los sarcómeros por los canales transversales del sistema de túbulos T. En el músculo en reposo, la concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma típicamente oscila entre 10^{-8} y 10^{-7} mol/L. Esta baja concentración restante es mantenida por la actividad basal de Ca^{2+} ATPasa (véase **figura 51–8**), una bomba de calcio activado por Ca^{2+} que usa la energía de la hidrólisis de ATP para mover iones de calcio de regiones de baja a alta concentración. Una vez dentro del SR, Ca^{2+} está unida a una proteína de unión específica a Ca^{2+} llamada **calsecuestrina**.

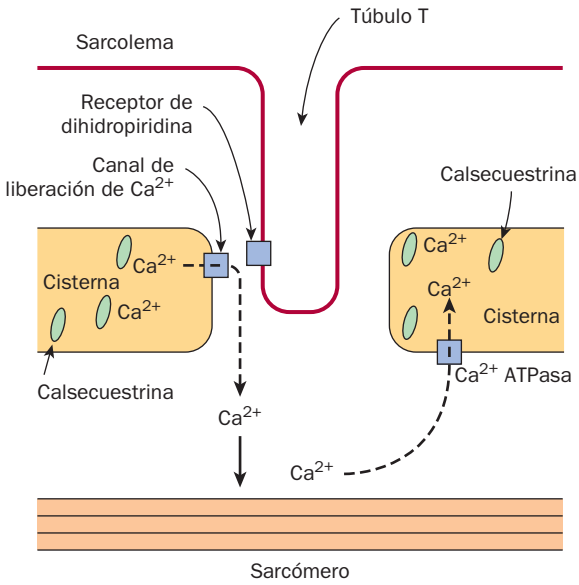


FIGURA 51-8 Diagrama de las relaciones entre el sarcolema (membrana plasmática), un túbulo T y dos cisternas del RS del músculo esquelético (no a escala). El túbulo T se extiende hacia adentro desde el sarcolema. Una onda de despolarización, iniciada por un impulso nervioso, se transmite desde el sarcolema hacia el túbulo T. Luego se transporta al canal de liberación de Ca^{2+} (RYR), tal vez por la interacción entre este y el receptor de dihidropiridina (canal lento de voltaje de Ca^{2+}), que se muestran muy cerca. La liberación de Ca^{2+} del canal de liberación de Ca^{2+} en el citosol inicia la contracción. Posteriormente, Ca^{2+} se bombea de nuevo a las cisternas del SR mediante la Ca^{2+} ATPasa (bomba de Ca^{2+}) y se almacena allí, en parte ligada a la calsecuestrina.

Cuando un **impulso nervioso** estimula el sarcolema, las membranas excitables del sistema del túbulo T se despolarizan, abriendo los canales de liberación de Ca^{2+} **dependientes del voltaje** en el SR cercano. El Ca^{2+} inunda rápidamente el sarcoplasma, elevando la concentración casi 100 veces, a 10^{-5} mol/L, donde se une a la troponina C y la calmodulina para iniciar la contracción. El canal de liberación de Ca^{2+} dependiente de voltaje, un homotetrámero de subunidades de ≈565 kDa, es el blanco del alcaloide vegetal **rianodina**, que se une a él y modula su actividad. Por tanto, el canal de Ca^{2+} dependiente de voltaje también se denomina receptor de rianodina o RYR (*ryanodine receptor*). Hay dos isoformas de este receptor. RYR1 está presente en el músculo esquelético. RYR2, en el músculo cardiaco y en el cerebro. El canal se encuentra muy cerca de otro canal de Ca^{2+} dependiente de voltaje del sistema de túbulo transverso, el **receptor de dihidropiridina** (obsérvese figura 51-8).

La liberación de Ca^{2+} en el sarcoplasma también activa la ATPasa dependiente de Ca^{2+}, cuya actividad es estimulada por la unión de Ca^{2+}_4:calmodulina. Esto inmediatamente pone en marcha la exportación de Ca^{2+} desde el sarcoplasma de nuevo al SR, que permite que el músculo se relaje rápidamente y esté listo para otra contracción. Si la concentración de ATP en el sarcoplasma cae drásticamente (p. ej., por uso excesivo durante el ciclo de contracción-relajación o por formación disminuida, como podría ocurrir en la isquemia), la Ca^{2+}-ATPasa cesará de bombear y los niveles de iones calcio se mantendrán altos.

Las mutaciones en el gen que codifica el canal de liberación de Ca^{2+} son la causa de la hipertermia maligna humana

Algunos pacientes genéticamente predispuestos experimentan una reacción grave, denominada **hipertermia maligna** (**MH,** ***malignant hyperthermia***), al exponerse a ciertos anestésicos (p. ej., halotano) y a relajantes despolarizantes del músculo esquelético (p. ej., succinilcolina). La reacción consiste principalmente en rigidez de los músculos esqueléticos, hipermetabolismo y fiebre alta. Una **alta concentración citosólica de Ca^{2+}** en el músculo esquelético es un factor importante en su causalidad. A menos que se reconozca y trate la hipertermia maligna de inmediato, los pacientes pueden morir de fibrilación ventricular aguda o sucumbir a otras complicaciones graves. El tratamiento adecuado consiste en suspender la anestesia y administrar el fármaco **dantroleno**, un relajante del músculo esquelético que actúa para inhibir la liberación de Ca^{2+} desde el SR hacia el citosol, por vía intravenosa. La MH también ocurre en **cerdos** homocigotos por MH (**síndrome de estrés porcino**). Si la reacción ocurre antes del sacrificio, afecta negativamente la calidad del cerdo, lo que da como resultado un producto de calidad inferior.

Las causas de MH en los humanos y en el ganado parecen ser complejas y pueden implicar mutaciones en los genes que codifican el canal de liberación de Ca^{2+}, calsecuestrina-1 o el receptor de dihidropiridina o en el gen *RYR1*. Las mutaciones en el gen *RYR1* también se asocian con la **enfermedad del núcleo central**. Esta es una miopatía rara que se presenta en la infancia con hipotonía y debilidad muscular proximal. La microscopía electrónica revela una ausencia de mitocondrias en el centro de muchas fibras musculares tipo I. El daño a las mitocondrias inducido por altos niveles intracelulares de Ca^{2+} secundaria al funcionamiento anormal de *RYR1* parece ser responsable de los hallazgos morfológicos.

EL MÚSCULO CARDIACO SE ASEMEJA AL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN MUCHOS ASPECTOS

La regulación de la contracción en el músculo cardiaco también se basa en la actina

El músculo cardiaco, como el músculo esquelético, es **estriado** y está regulado por el mismo sistema de actina-miosina-tropomiosina-troponina. A diferencia del músculo esquelético, el músculo cardiaco exhibe **ritmicidad intrínseca**, y los miocitos individuales se comunican entre sí debido a su naturaleza sincicial. El **sistema tubular-T** (véase a continuación) está más desarrollado en el músculo cardiaco, mientras que el SR es menos extenso y, en consecuencia, el suministro intracelular de Ca^{2+} para la contracción es menor. Por tanto, el músculo cardiaco depende del **Ca^{2+} extracelular** para la contracción; si el músculo cardiaco aislado se ve privado de Ca^{2+}, deja de latir por aproximadamente 1 minuto, mientras que el músculo esquelético puede continuar contrayéndose sin una fuente extracelular de Ca^{2+} durante un periodo más prolongado. El **AMP cíclico** desempeña un papel más prominente en el músculo cardiaco que en el esquelético. Modula los niveles intracelulares de Ca^{2+} a través de la activación de las proteínas cinasas que fosforilan varias proteínas de transporte en el sarcolema y en el SR. Ellos también se dirigen al complejo regulatorio troponina-tropomiosina, lo que afecta su capacidad de respuesta al Ca^{2+} intracelular. Hay una correlación desigual entre la desfoforización de TpI y la contracción incrementada del músculo cardiaco inducida por catecolaminas. Esto puede explicar los **efectos inotrópicos** (contractibilidad incrementada) de compuestos β en el corazón. En el **cuadro 51-2** están resumidas algunas diferencias entre los músculos esquelético, cardiaco y liso.

El Ca^{2+} ingresa a los cardiomiocitos a través de los canales de Ca^{2+} y sale a través del intercambiador de Na^{+}-Ca^{2+} y Ca^{2+} ATPasa

El Ca^{2+} extracelular entra en los cardiomiocitos a través de canales altamente selectivos. El principal portal de entrada es el tipo L (corriente de larga duración, gran conductancia) o el canal **Ca^{2+} lento**, que está bloqueado por voltaje, se abre durante la despolarización y se cierra cuando el potencial de acción disminuye. Estos canales son equivalentes a los receptores de dihidropiridina del músculo esquelético (véase figura 51-8). Los canales de Ca^{2+} lento están **regulados** por las proteínas cinasas dependientes de cAMP (estimuladoras) y las proteínas cinasas dependientes de cGMP (inhibidoras), y pueden ser inhibidas por los llamados bloqueadores de los canales de calcio (p. ej., verapamilo). Los canales de Ca^{2+} **rápidos** (o T, transitorios) también están presentes en el plasmalema, aunque en número mucho más bajo; probablemente contribuyan a la fase temprana de aumento de Ca^{2+} mioplásmico.

Cuando la concentración de Ca^{2+} en el mioplasma aumenta, desencadena la apertura del canal de liberación de Ca^{2+} del SR. De hecho, la liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} de las reservas de SR representa aproximadamente 90% del Ca^{2+} que entra en un cardiomiocito estimulado. Sin embargo, 10% que ingresa desde el citoplasma es de vital importancia, ya que sirve como un disparador para la movilización de Ca^{2+} desde el SR.

El intercambiador Na^{+}-Ca^{2+} sirve como la ruta principal de salida de Ca^{2+} de los cardiomiocitos. Na^{+} y Ca^{2+} se intercambian en una proporción de 3:1, con el movimiento de iones de sodio hacia la célula desde el plasma que proporciona la energía necesaria para mover el calcio al plasma contra un gradiente de concentración. Este intercambio contribuye a la relajación, pero puede correr en la dirección inversa durante la excitación. En consecuencia, cualquier cosa que cause que el Na^{+} intracelular aumente provocará secun-

CUADRO 51-2 Algunas diferencias entre los músculos esquelético, cardiaco y liso

Músculo esquelético	Músculo cardiaco	Músculo liso
1. Estriado	1. Estriado	1. No estriado
2. Sin sincitio	2. Sincicial	2. Sincicial
3. Túbulos T pequeños	3. Túbulos T grandes	3. Generalmente túbulos T rudimentarios
4. El retículo sarcoplasmático está bien desarrollado y la bomba de Ca^{2+} actúa rápidamente.	4. El retículo sarcoplasmático presente y la bomba de Ca^{2+} actúa con relativa rapidez.	4. El retículo sarcoplasmático a menudo es rudimentario y la bomba de Ca^{2+} actúa lentamente.
5. El plasmalema contiene pocos receptores de hormonas.	5. El plasmalema contiene una variedad de receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).	5. El plasmalema contiene una variedad de receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).
6. El impulso nervioso inicia la contracción.	6. Tiene ritmicidad intrínseca.	6. Contracción iniciada por impulsos nerviosos, hormonas, etcétera.
7. Fluido extracelular de Ca^{2+} no importante para la contracción.	7. Fluido extracelular de Ca^{2+} importante para la contracción.	7. Fluido extracelular de Ca^{2+} importante para la contracción.
8. Sistema de troponina presente.	8. Sistema de troponina presente.	8. Carece de sistema de troponina; usa la cabeza de miosina reguladora.
9. El caldesmón no está involucrado.	9. El caldesmón no está involucrado.	9. El caldesmón es una proteína reguladora importante.
10. Ciclo muy rápido de los puentes cruzados.	10. Ciclo relativamente rápido de los puentes cruzados	10. El ciclo lento de los puentes cruzados permite una contracción lenta y prolongada y una menor utilización de ATP.

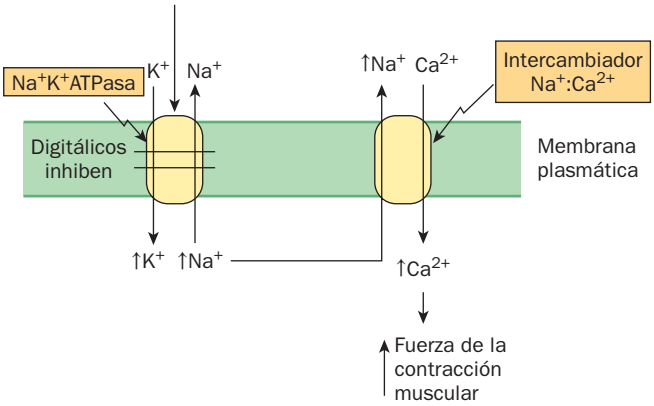


FIGURA 51-9 Esquema de cómo los fármacos digitálicos (usados en el tratamiento de ciertos casos de insuficiencia cardiaca) incrementan la contracción cardiaca. Los digitálicos inhiben la Na^+-K^+ ATPasa (véase capítulo 40). Esto trae como resultado menos Na^+ bombeado del miocito cardiaco y conduce a un incremento de la concentración intracelular de Na^+. Se estimula el intercambiador Na^+-Ca^{2+} de manera que más Na^+ es intercambiado afuera, y más Ca^{2+} entra en el miocito. La concentración intracelular incrementada resultante de Ca^{2+} amplía la fuerza de la contracción muscular.

CUADRO 51-3 Algunos trastornos (canalopatías) por mutaciones en genes que codifican polipéptidos constituyentes de canales de iones

Trastornos[a]	Canal iónico y principales órganos involucrados
Enfermedad del núcleo central (OMIM 117000)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1), músculo esquelético
Parálisis periódica hipercaliémica (OMIM 170500)	Canal de sodio, músculo esquelético
Parálisis periódica hipocaliémica (OMIM 170400)	Canal de voltaje lento de Ca^{2+} (DHPR), músculo esquelético
Hipertermia maligna (OMIM 145600)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1), músculo esquelético
Miotonía congénita (OMIM 160800)	Canal de cloruro, músculo esquelético

[a] Otras canalopatías incluyen el síndrome de QT largo (OMIM 192500), el pseudoaldosteronismo (síndrome de Liddle, OMIM 177200), la hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia (OMIM 601820), la nefrolitiasis de la infancia hereditaria ligada al cromosoma X tipo recesivo II (síndrome de Dent, OMIM 300009), y la miotonía generalizada, recesiva (enfermedad de Becker, OMIM 255700). El término "miotonía" significa cualquier condición en la cual los músculos no se relajan después de la contracción.

Fuente: Datos en parte de Ackerman NJ, Clapham DE: Ion channels—basic science and clinical disease. *N Engl J Med* 1997;336:1575.

dariamente que el Ca^{2+} intracelular también se eleve, causando una contracción más fuerte (**efecto inotrópico positivo**). Los **digitálicos** promueven la entrada de Ca^{2+} a través del intercambiador Ca^{2+}-Na^+ al inhibir el Na^+-K^+-ATPasa del sarcolema, se reduce la velocidad de salida de Na^+ por esta vía, y aumenta así el Na^+ intracelular. El aumento resultante del Ca^{2+} intracelular potencia la fuerza de la contracción cardiaca en beneficio de un paciente que experimenta insuficiencia cardiaca (véase **figura 51-9**).

A diferencia del músculo esquelético, se cree que la **Ca^{2+} ATPasa** del sarcolema es un contribuyente menor al egreso de Ca^{2+} en comparación con el intercambiador Ca^{2+}-Na^+. El músculo cardiaco es rico en canales iónicos (véase capítulo 40), y también son importantes en el músculo esquelético. Se ha demostrado que las mutaciones en los genes que codifican los canales iónicos son responsables de una serie de afecciones relativamente raras que afectan a los músculos. Estas y otras enfermedades debidas a mutaciones de los canales iónicos se han denominado canalopatías; algunas se relacionan en el **cuadro 51-3**.

LA CONTRACCIÓN MUSCULAR REQUIERE GRANDES CANTIDADES DE ATP

La cantidad de ATP en el músculo esquelético es sólo suficiente para proporcionar energía para la contracción durante unos segundos. En consecuencia, las células musculares han desarrollado múltiples mecanismos para regenerar el ATP necesario para mantener el ciclo de contracción y relajación: 1) mediante glucólisis, utilizando glucosa en sangre o glucógeno muscular, 2) mediante fosforilación oxidativa, 3) a partir de fosfato de creatina y 4) a partir de dos moléculas de ADP en una reacción catalizada por adenilil cinasa (véase **figura 51-10**).

El músculo esquelético contiene grandes cantidades de glucógeno

El sarcoplasma del músculo esquelético contiene grandes reservas de **glucógeno**, ubicadas en gránulos cerca de las bandas I. La liberación de glucosa del glucógeno depende de un músculo específico, **glucógeno fosforilasa** (véase capítulo 18), la cual puede activarse con Ca^{2+}, epinefrina y AMP. El Ca^{2+} también activa la fosforilasa b-cinasa, lo que permite que la movilización de la glucosa comience con el inicio de la contracción muscular.

Bajo condiciones aerobias, el músculo genera ATP principalmente por fosforilación oxidativa

La síntesis de ATP por fosforilación oxidativa requiere un suministro de oxígeno. Los músculos que tienen una gran demanda de oxígeno como resultado de una contracción sostenida (p. ej., para mantener la postura) lo almacenan unido al resto hemo de la mioglobina. Los músculos que contienen mioglobina son de color rojo, mientras que los músculos con poca o ninguna mioglobina son blancos. La glucosa, derivada de la glucosa en sangre o del glucógeno endógeno, y los ácidos grasos, derivados de los triacilgliceroles del tejido adiposo, son los principales sustratos utilizados para el metabolismo aerobio en el músculo.

El fosfato de creatina constituye una reserva de energía fundamental en los músculos

El fosfato de creatina proporciona una fuente disponible de fosfato de alta energía que se puede utilizar para regenerar el ATP a partir de ADP. El fosfato de creatina es sintetizado por la **creatina cinasa** (**CK,** ***creatine kinase***), una enzima específica del músculo con utilidad clínica en la detección de enfermedades agudas o cró-

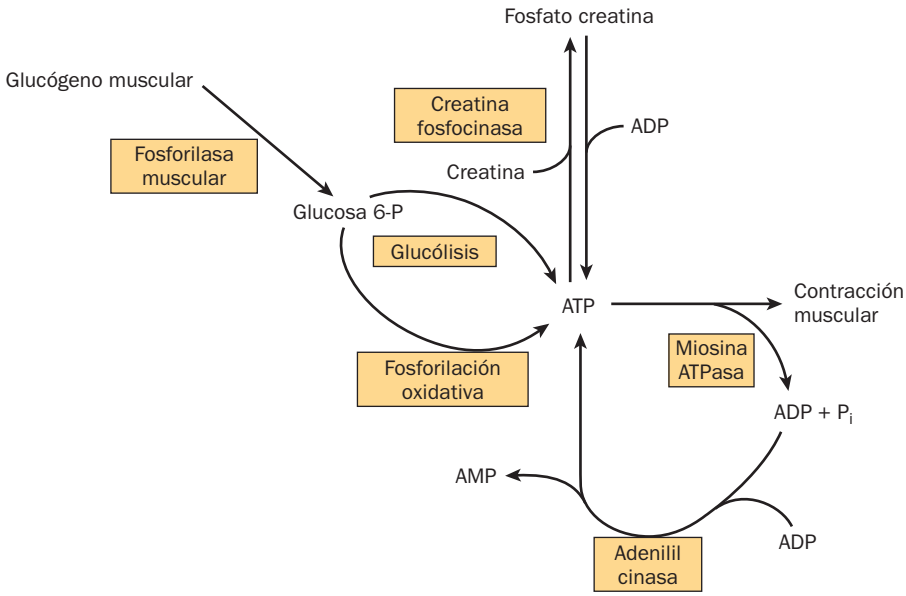


FIGURA 51-10 **Las múltiples fuentes de ATP en el músculo.**

nicas del músculo, usando ATP como fosfodonor (consúltese figura 51-10). La constante de equilibrio para esta reacción es cercana a 1. Por tanto, cuando los niveles de ATP son altos, se favorece la formación de fosfato de creatina. Sin embargo, cuando los niveles de ATP caen, el equilibrio cambia a favor de la síntesis de ATP a expensas del fosfato de creatina almacenado.

La adenilil cinasa sirve como reserva de último recurso

La ATP sintasa (véase figura 13-8) es el principal vehículo para regenerar ATP en las células vivas. Sin embargo, sólo puede sintetizar ATP desde ADP. Para regenerar ATP de AMP, este último primero debe ser fosforilado para formar ADP, un proceso catalizado por la enzima adenilil cinasa que usa ATP como fosfodonor. Por tanto, esta enzima puede generar dos moléculas de ADP a partir de una molécula de AMP y una de ATP. Cuando otros medios para regenerar ATP se agotan y el nivel de nucleótidos trifosfato cae, el equilibrio cambia a favor de la síntesis de ATP a expensas de ADP. Es importante tener en cuenta que el subproducto de esta reacción es AMP. Por tanto, esto es sólo un recurso temporal ya que la célula sólo puede canibalizar su conjunto total de nucleótidos de adenina durante un tiempo.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONTIENE FIBRAS DE CONTRACCIÓN LENTA (ROJAS) Y RÁPIDA (BLANCAS)

Se han detectado diferentes tipos de fibras en el músculo esquelético. Una clasificación los subdivide en tipo I (contracción lenta), tipo IIA (contracción rápida-oxidativa) y tipo IIB (contracción rápida, glucolítica). Con el objetivo de sintetizar, consideraremos sólo dos tipos: el tipo I (contracción lenta, oxidativa) y el tipo II (contracción rápida, glucolítica). Las fibras de **tipo I** son rojas porque contienen mioglobina y mitocondrias; su metabolismo es aerobio y mantienen contracciones relativamente sostenidas. Las fibras blancas **tipo II** carecen de mioglobina y contienen pocas mitocondrias: obtienen su energía de la glucólisis anaerobia y realizan contracciones de duración relativamente corta.

La proporción de estos dos tipos de fibras varía entre los músculos del cuerpo, según la función y el entrenamiento. Por ejemplo, la cantidad de fibras tipo I en ciertos músculos de las piernas aumenta en atletas que entrenan para maratones, mientras que la cantidad de fibras tipo II aumenta en los velocistas. Las fibras tipo I dependen en gran medida del metabolismo aeróbico para regenerar el ATP, mientras que las fibras tipo II dependen de fuentes independientes del oxígeno como el fosfato de creatina. Por esta razón, muchos atletas de resistencia dependen de la carga de carbohidratos, la ingestión de comidas que consisten predominantemente en alimentos con un alto contenido de almidón, en un esfuerzo por aumentar el tamaño de sus reservas de glucógeno, mientras que algunos velocistas intentarán aumentar el grupo de fosfato de creatina en sus músculos mediante la ingestión de creatina como un suplemento dietético.

LOS TEJIDOS MUSCULARES SON EL BLANCO DE VARIOS TRASTORNOS GENÉTICOS

Las miocardiopatías heredadas pueden surgir de los trastornos del metabolismo de la energía cardiaca o de las proteínas miocárdicas anormales

Una **miocardiopatía** es cualquier anomalía estructural o funcional del miocardio ventricular. Estas anomalías pueden surgir de una serie de causas, muchas de ellas hereditarias. Como se muestra en

CUADRO 51-4 Causas bioquímicas de cardiomiopatías heredadas[a]

Causas	Proteínas o procesos afectados
Errores innatos de oxidación de ácidos grasos	Entrada de carnitina en las células y las mitocondrias Ciertas enzimas de la oxidación de ácidos grasos
Trastornos de fosforilación oxidativa mitocondrial	Proteínas codificadas por genes mitocondriales Proteínas codificadas por genes nucleares
Anomalías de las proteínas contráctiles y estructurales del miocardio	Cadenas pesadas de β-miosina, troponina, tropomiosina, distrofina

[a] Mutaciones (p. ej., mutaciones puntuales, o en algunos casos deleciones) en los genes (nucleares o mitocondriales) que codifican diversas proteínas, enzimas o moléculas de tRNA son las causas fundamentales de las miocardiopatías heredadas. Algunas condiciones son leves, mientras que otras son graves y pueden ser parte de un síndrome que afecta a otros tejidos.
Fuente: Basado en Kelly DP, Strauss AW. Inherited cardiomyopathies. N Engl J Med 1994;330:913.

el **cuadro 51-4**, las causas de las miocardiopatías hereditarias se dividen en dos grandes clases: 1) trastornos del metabolismo de la energía cardiaca, que reflejan principalmente mutaciones en genes que codifican enzimas o proteínas implicadas en la oxidación de ácidos grasos (una fuente importante de energía para el miocardio) y la fosforilación oxidativa; 2) mutaciones en genes que codifican proteínas implicadas o que afectan la contracción del miocardio, tales como la miosina, la tropomiosina, las troponinas y la proteína C de unión a la miosina cardiaca.

Las mutaciones en el gen de la cadena pesada de la β-miosina cardiaca son una causa de miocardiopatía hipertrófica familiar

La miocardiopatía hipertrófica familiar es una de las enfermedades cardiacas hereditarias más frecuentes. Los pacientes presentan hipertrofia, a menudo masiva, de uno o ambos ventrículos, con inicio temprano en la vida. La mayoría de los casos se transmiten de manera autosómica dominante; el resto es esporádico. La causa raíz de esta condición es cualquiera de las diversas **mutaciones sin sentido** en el gen que codifica la **cadena pesada de β-miosina** que conduce a la sustitución de un aminoácido altamente conservado con algún otro residuo. Las sustituciones se agrupan en las regiones de la cabeza y la cabeza-cuello de la cadena pesada de miosina. Una hipótesis es que los polipéptidos mutantes ("polipéptidos venenosos") causan la formación de miofibrillas anormales, que dan como resultado una hipertrofia compensadora.

Los pacientes con miocardiopatía hipertrófica familiar pueden mostrar una gran variación en el cuadro clínico. Esto en parte refleja la heterogeneidad genética ya que parece que las mutaciones en varios otros genes (p. ej., los que codifican actina cardiaca, tropomiosina, troponinas cardiacas I y T, cadenas ligeras de miosina esenciales y reguladoras, proteína C de unión a miosina cardiaca, titina y tRNA-glicina mitocondrial y tRNA-isoleucina) también pueden causar cardiomiopatía hipertrófica familiar. Los pacientes que albergan mutaciones pronosticadas que alterarán el carácter de carga de la cadena lateral de aminoácidos afectada exhiben una esperanza de vida significativamente más corta que los pacientes en los que la mutación no produjo alteración en la carga.

Las mutaciones en los genes que codifican distrofina, proteína LIM muscular (llamada así porque se descubrió que contenía un dominio rico en cisteína originalmente detectado en tres proteínas: Lin-II, Isl-1 y Mec-3), la proteína de unión al elemento de respuesta AMP cíclico (CREB), desmina y laminina han sido implicados en la causalidad de la **miocardiopatía dilatada**. Las primeras dos proteínas ayudan a organizar el aparato contráctil de las células del músculo cardiaco, mientras que CREB regula la expresión de varios genes dentro de estas células.

Las mutaciones en el gen que codifica la distrofina causan distrofia muscular de Duchenne

Otros componentes proteicos del aparato contráctil son la titina, la proteína conocida más grande del mundo cuyo papel es anclar los extremos de miofibrillas, nebulina, α-actinina, desmina y distrofina. Entre estas proteínas, la **distrofina** es de particular interés biomédico. Las mutaciones en el gen que la codifica desempeñan un papel causal en la **distrofia muscular de Duchenne** y la **distrofia muscular de Becker** y se han implicado en la **miocardiopatía dilatada** (véase más adelante). La distrofina une el citoesqueleto de actina con la matriz extracelular en la cara interior de la membrana plasmática. La formación de este enlace es necesaria para el ensamblaje de la unión sináptica. La distrofia muscular de Duchenne parece ser el resultado de la incapacidad de las formas de distrofina mutacionalmente alteradas para apoyar la formación de uniones sinápticas funcionalmente competentes. De manera similar, las mutaciones en los genes que codifican las glicosiltransferasas que modifican α-distroglicano o aquellas que codifican componentes polipeptídicos del complejo de **sarcoglicano** (véase **figura 51-11**) son responsables de ciertas otras formas congénitas de distrofia muscular, como la de **miembro-cintura.**

El óxido nítrico (NO) relaja el músculo liso de los vasos sanguíneos

La acetilcolina desencadena la relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos a través de una vía de transducción de señales mediada por receptores. La unión de la acetilcolina a sus receptores de superficie celular en las células endoteliales que rodean a las células del músculo liso vascular activa las fosfolipasas asociadas en la superficie interior de la membrana plasmática. Estas enzimas hidrolizan y liberan los grupos de cabeza polifosforilados, particularmente el 3,4,5-trifosfoinositol, a partir del fosfatidilinositol, un componente fosfolípido cuantitativamente menor pero funcionalmente importante de la membrana plasmática. Estos segundos mensajeros de polifosfoinositol inician la liberación de Ca^{2+} en el citoplasma de estas células epiteliales vasculares, lo que a su vez desencadena la liberación del **factor de relajación derivado del endotelio** (**EDRF,** ***endothelium-derived relaxing factor***), que se difunde hacia el músculo liso adyacente.

La identificación de EDRF como **NO**, óxido nitroso, resultó ser muy difícil, ya que este gas diatómico reacciona rápidamente con oxígeno y superóxido, lo que da como resultado una vida media muy corta (~3-4 segundos) en los tejidos.

El NO está formado por la NO sintasa, una enzima activada por Ca^{2+} que se encuentra en el citosol. La NO sintasa cataliza la oxida-

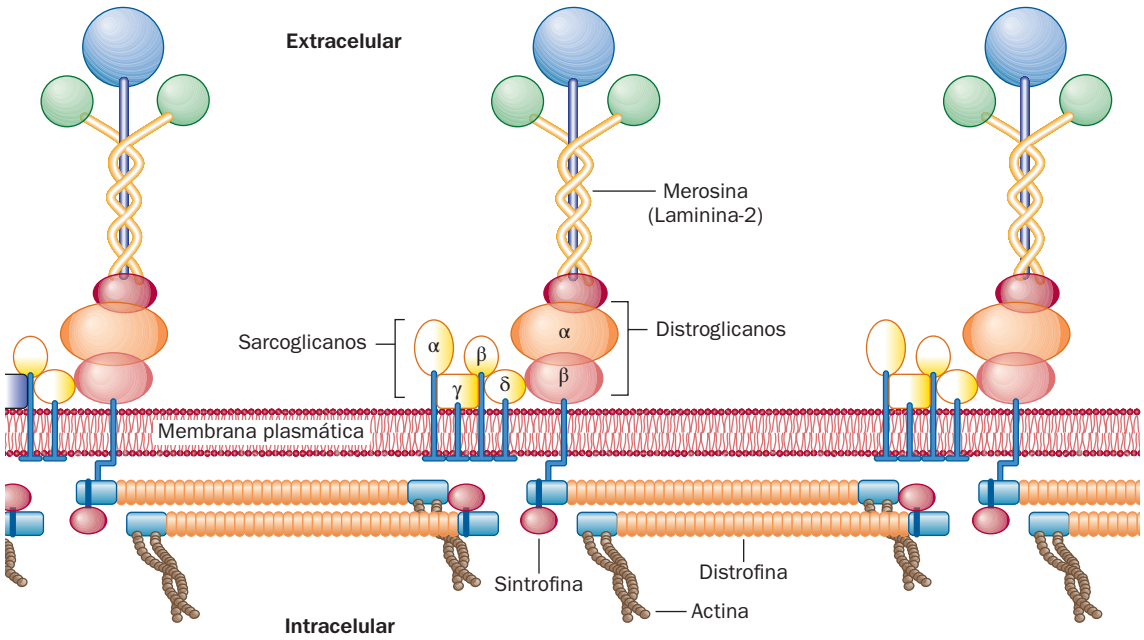


FIGURA 51-11 Organización de la distrofina y otras proteínas en relación con la membrana plasmática de las células musculares. La distrofina es parte de un gran complejo oligomérico asociado con otros complejos proteicos. El complejo distroglicano consiste en α-distroglicano, que se asocia con la proteína de la lámina basal merosina (también llamada laminina-2, véase capítulo 50), y α-distroglicano, que se une α-distroglicano y distrofina. La sintrofina se une al carboxilo terminal de la distrofina. El complejo de sarcoglicano consiste en cuatro proteínas transmembrana: α-, β-, γ- y δ-sarcoglicano. No está clara la función del complejo de sarcoglicano ni la naturaleza de sus interacciones internas y con otros complejos. El complejo de sarcoglicano se forma sólo en el músculo estriado, y sus subunidades se asocian preferentemente entre sí, lo que sugiere que el complejo puede funcionar como una sola unidad. Las mutaciones en el gen que codifica distrofina causan distrofias musculares de Duchenne y Becker. Se ha demostrado que las mutaciones en los genes que codifican los diversos sarcoglicanos son responsables de las distrofias de miembro-cintura (p. ej., OMIM 604286) y las mutaciones en los genes que codifican otras proteínas musculares causan otros tipos de distrofia muscular. Las mutaciones en los genes que codifican ciertas glicosiltransferasas implicadas en la síntesis de las cadenas de glicanos de α-distroglicano son responsables de ciertas distrofias musculares congénitas. (Reproducido con permiso de Duggan DJ, *et al*. Mutations in the sarcoglycan genes in patiens with myopathy. *N Engl J Med* 1997;336:618. Copyright © 1997 Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados).

ción de cinco electrones de un nitrógeno guanidino en la cadena lateral de la arginina y produce citrulina y NO (véase **figura 51-12**), una reacción compleja que utiliza NADPH y cuatro grupos prostéticos con actividad redox: FAD, FMN, hemo, y tetrahidrobiopterina. Al difundirse en las células del músculo liso vascular circundante, el NO se une al resto hemo de una guanilil ciclasa soluble, lo que activa la enzima y eleva los niveles intracelulares del segundo mensajero 3',5'- GMP cíclico (cGMP). Esto a su vez estimula las actividades de ciertas proteínas cinasas dependientes de cGMP, que probablemente fosforilan proteínas musculares específicas y causan relajación.

El NO también puede formarse a partir del **nitrito**, derivado del metabolismo de los vasodilatadores, como el trinitrato de glicerilo, también conocido como nitroglicerina, que se administra comúnmente para tratar la angina de pecho. Otro efecto cardiovascular importante del NO es la inhibición de la agregación plaquetaria, una consecuencia del aumento de la síntesis de cGMP. NO también ha sido implicado en otros procesos fisiológicos. Por ejemplo, puede reaccionar con superóxido para generar **peroxinitrito** (ONOO–), que puede reaccionar con las cadenas laterales de tirosina y formar nitrotirosina o generar el radical OH altamente reactivo cuando se descompone.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONSTITUYE LA MAYOR RESERVA DE PROTEÍNA EN EL CUERPO

En los seres humanos, las **proteínas del músculo esquelético** son la principal fuente de energía almacenada sin grasa. Esto explica las grandes pérdidas de masa muscular, particularmente en adultos, que acompañan a la desnutrición calórica prolongada.

EL CITOESQUELETO REALIZA MÚLTIPLES FUNCIONES CELULARES

Todas las células realizan trabajos mecánicos, aunque de menor magnitud física que las células musculares. Estos incluyen autopropulsión, citoquinesis, endocitosis, exocitosis y fagocitosis. Al igual que las células musculares, el núcleo de este mecanismo está compuesto por polímeros proteicos filamentosos llamados **citoesqueleto**. Las estructuras filamentosas más cuantitativamente promi-

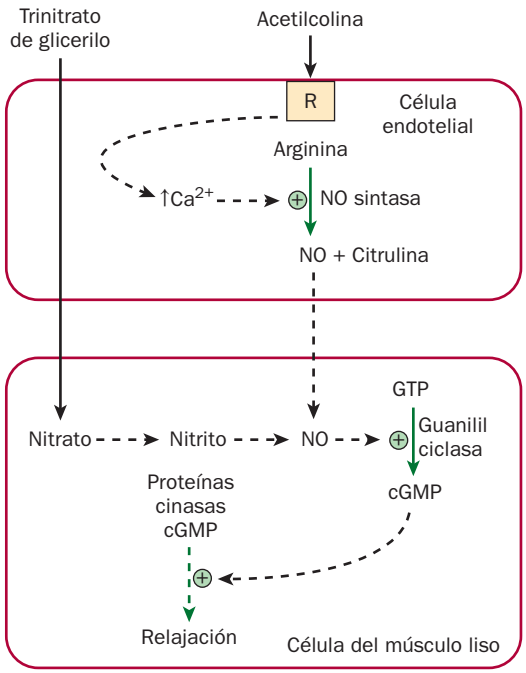


FIGURA 51-12 Diagrama que muestra la formación en una célula endotelial de óxido nítrico (NO) a partir de arginina en una reacción catalizada por la NO sintasa. La interacción de un agonista (p. ej., acetilcolina) con un receptor (R, *receptor*) conduce a la liberación intracelular de Ca^{2+} inducida por trisfosfato de inositol generado por la vía de fosfoinosítido, lo que da como resultado la activación de la NO sintasa. Posteriormente, el NO se difunde en el músculo liso adyacente, donde conduce a la activación de la guanilil ciclasa, a la formación de cGMP, a la estimulación de las proteínas cinasas cGMP y a la posterior relajación. Se muestra la nitroglicerina vasodilatadora ingresando a la célula del músculo liso, donde su metabolismo también conduce a la formación de NO.

nentes del citoesqueleto incluyen **filamentos de actina** (también conocidos como microfilamentos), **microtúbulos** y **filamentos intermedios**.

Las células no musculares contienen microfilamentos que contienen Actina G

La **Actina G** está presente en la mayoría, si no en todas, las células del cuerpo. En condiciones fisiológicas, los monómeros de Actina G se polimerizan espontáneamente para formar filamentos de **Actina F** de doble hélice, de 7 a 9.5 nm de diámetro, similares a los encontrados en el músculo. Los microfilamentos de actina del citoesqueleto generalmente existen como haces dentro de una malla enmarañada. Estos haces prominentes, que subyacen en las membranas plasmáticas de muchas células, se denominan **fibras de estrés**. Las fibras de estrés desaparecen a medida que aumenta la motilidad celular o tras la transformación maligna de las células.

Se pueden encontrar dos tipos de actina en los microfilamentos citoesqueléticos, llamados β-actina y γ-actina. Aunque no están organizados como en el músculo, los filamentos de actina en las células no musculares pueden interactuar con la **miosina** para causar movimientos celulares.

Los microtúbulos contienen tubulinas α- y β

Los microtúbulos, un componente integral del citoesqueleto celular, consisten en tubos citoplasmáticos, de 25 nm de diámetro, que a menudo tienen una longitud extrema (véase **figura 51-13**). Cada tubo cilíndrico está compuesto por 13 protofilamentos dispuestos longitudinalmente compuestos de **α-tubulina** y **β-tubulina**, proteínas estrechamente relacionadas de una masa molecular de ≈50 kDa. El ensamblaje comienza con la formación de dímeros de tubulina que se ensamblan en protofilamentos que se asocian entre sí en paralelo para formar láminas y eventualmente cilindros. Se requiere **GTP** para el ensamblaje. Un centro organizador de microtúbulos, ubicado alrededor de un par de centríolos, nuclea el

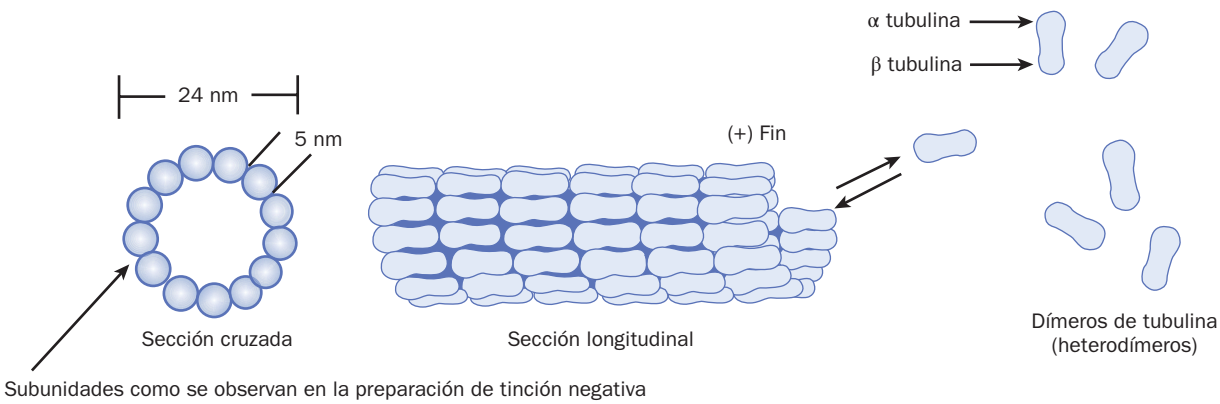


FIGURA 51-13 Representación esquemática de microtúbulos. A la izquierda y al centro se muestran dibujos de microtúbulos como se observa en el microscopio electrónico después de la fijación con ácido tánico en glutaraldehído. Las subunidades de tubulina sin teñir están delineadas por el ácido tánico denso. Las secciones transversales de los túbulos revelan un anillo de 13 subunidades de dímeros dispuestos en espiral. Los cambios en la longitud de los microtúbulos se deben a la adición o pérdida de subunidades individuales de tubulina. Los arreglos característicos de los microtúbulos (que no se muestran aquí) se encuentran en centríolos, cuerpos basales, cilios y flagelos. (Reproducido con permiso de Junqueirai LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology*. 7ma ed. Appleton & Lange; 1992).

crecimiento de nuevos microtúbulos. Una tercera especie de tubulina, γ-tubulina, parece desempeñar un papel importante en este proceso.

Los microtúbulos son necesarios para la formación y la función del **huso mitótico** responsable de la segregación cromosómica durante la división celular. También están involucrados en el movimiento intracelular de las vesículas endocíticas y exocíticas y forman los principales componentes estructurales de los **cilios** y **flagelos**. Los microtúbulos son un componente principal de los **axones** y las **dendritas**, en los que mantienen la estructura y participan en el flujo axoplásmico de material a lo largo de estos procesos neuronales. Los microtúbulos también contienen una variedad de **proteínas asociadas a microtúbulos** [**MAPs,** ***microtubule-associated proteins***], una de las cuales es **tau**, que también desempeña un papel importante en el ensamblaje y la estabilización de los microtúbulos.

Los microtúbulos están en un estado de inestabilidad dinámica, ensamblándose y desensamblándose constantemente. Exhiben **polaridad** (extremos más y menos); una característica importante para ambos en su crecimiento a partir de los centríolos y su capacidad para dirigir el movimiento intracelular. Por ejemplo, en el transporte axonal, la proteína **cinesina**, con una actividad de ATPasa similar a la miosina, usa la hidrólisis de ATP para mover vesículas por el axón hacia el extremo positivo de la formación microtubular. El flujo de materiales en la dirección opuesta, hacia el extremo negativo, es potenciado por **dineína citosólica**, otra proteína con actividad de ATPasa. De manera similar, las **dineínas axonemales** potencian el movimiento ciliar y flagelar mientras que la **dinamina**, que usa GTP en lugar de ATP, está implicada en la endocitosis. Las cinesinas, dineínas, dinaminas y miosinas se conocen como **motores moleculares**.

La ausencia de dineína en los cilios y flagelos produce cilios y flagelos inmóviles, lo que lleva a la esterilidad masculina, *situs inversus* e infección respiratoria crónica, una afección conocida como **síndrome de Kartagener** (OMIM 244400). Se han detectado mutaciones en genes que afectan la síntesis de dineína en individuos con este síndrome. Ciertos **fármacos** se unen a los microtúbulos y, por tanto, interfieren con su ensamblaje o desensamblaje. Estos incluyen **colchicina** (utilizada para el tratamiento de la artritis gotosa aguda), **vinblastina** (un alcaloide de la vinca utilizado para tratar ciertos tipos de cáncer), **paclitaxel** (Taxol) (eficaz contra el cáncer de ovario) y **griseofulvina** (un agente antifúngico).

CUADRO 51-5 Clases de filamentos intermedios de células eucariotas y sus distribuciones

Proteínas	Masa molecular (kDa)	Distribuciones
Láminas		
A, B y C	65-75	Lámina nuclear
Queratinas		
Tipo I (ácidas)	40-60	Células epiteliales, pelo, uñas
Tipo II (básicas)	50-70	En cuanto al tipo I (ácido)
Similar a vimentina		
Vimentina	54	Varias células mesenquimales
Desmina	53	Músculo
Proteína ácida fibrilar glial	50	Células gliales
Periferina	66	Neuronas
Neurofilamentos		
Bajo (L), medio (M) y alto (H)[a]	60-130	Neuronas

[a] Se refiere a sus masas moleculares.

Nota: Los filamentos intermedios tienen un diámetro aproximado de 10 nm y tienen varias funciones. Por ejemplo, las queratinas se distribuyen ampliamente en las células epiteliales y se adhieren mediante proteínas adaptadoras a desmosomas y hemidesmosomas. Las láminas proporcionan soporte para la membrana nuclear.

Los filamentos intermedios difieren de los microfilamentos y microtúbulos

Existe un sistema fibroso intracelular compuesto de filamentos con una periodicidad axial de 21 nm y un diámetro de 8 a 10 nm que está intermedio entre el de los microfilamentos (6 nm) y los microtúbulos (23 nm). Se encuentran al menos cuatro clases de **filamentos intermedios**, como se indica en el **cuadro 51-5**. Cada uno está formado por moléculas alargadas y fibrosas con un dominio de barra central, una cabeza aminoterminal y una cola carboxilo terminal. Estas subunidades se ensamblan de forma helicoidal y crean unidades tetraméricas repetitivas para formar fibrillas similares a cuerdas. Los filamentos intermedios son componentes estructurales importantes de las células que sirven como componentes **relativamente estables** del citoesqueleto, no se someten a un ensamblaje y desensamblaje rápidos y no desaparecen durante la mitosis, como lo hacen la actina y muchos filamentos microtubulares. Una excepción importante a esto son las **láminas,** que, después de la fosforilación, se desarman en la mitosis y reaparecen cuando finaliza. Las **láminas** forman una malla colocada en aposición a la membrana nuclear interna.

Las mutaciones en el gen que codifica la **lámina A** y la **lámina C** causan el síndrome de progeria Hutchinson-Gilford (**progeria**) [OMIM 176670]. Una forma farnesilada (véase figura 26-2 para la estructura de farnesil) de prelamina A se acumula en esta afección, debido a que el sitio en el cual la porción farnesilada de lámina A se escinde normalmente por proteasas se ha alterado por mutación. La lámina A es un componente importante del andamiaje estructural que mantiene la integridad del núcleo de una célula. Parece que la acumulación de prelámina A farnesilada desestabiliza los núcleos y altera su forma, lo que de alguna manera predispone a los pacientes a **manifestar signos de envejecimiento prematuro**. Los experimentos en ratones han indicado que la administración de un inhibidor de farnesiltransferasa puede reformar el desarrollo de núcleos deformados. Los niños que tienen esta afección a menudo mueren en la adolescencia por la aterosclerosis.

Las queratinas forman una gran familia que consta de unos 30 miembros. Como se indica en el cuadro 51-5, se encuentran dos tipos principales de queratinas que se ensamblan en **heterodímeros** formados por un miembro de cada clase. Las **vimentinas** están ampliamente distribuidas en las células mesodérmicas. La desmina, la proteína ácida fibrilar glial y la periferina están relacionadas con ellas. Todos los miembros de la familia similar a vimentina pueden copolimerizarse entre ellos.

Los filamentos intermedios en las células nerviosas, llamados neurofilamentos, se clasifican en bajo, medio y alto en función de sus masas moleculares. La **distribución de los filamentos inter-**

medios en células normales y anormales (p. ej., cáncer) puede estudiarse mediante el uso de técnicas de inmunofluorescencia, con anticuerpos de especificidades apropiadas. Estos anticuerpos para filamentos intermedios específicos también pueden ser útiles para los patólogos para ayudar a decidir el origen de ciertos tumores malignos indiferenciados. Estos tumores aún pueden retener el tipo de filamentos intermedios encontrados en su célula de origen.

Se ha descubierto que varias **enfermedades de la piel**, caracterizadas principalmente por formación de ampollas, se deben a mutaciones en genes que codifican **diversas queratinas**. Dos de estos trastornos son la epidermólisis bullosa simple (OMIM 131800) y la queratodermia palmoplantar epidermolítica (OMIM 144200). Las **ampollas** encontradas en estos trastornos probablemente reflejan una capacidad disminuida de varias capas de la piel para resistir tensiones mecánicas debido a anomalías en la estructura de la queratina.

RESUMEN

- Las miofibrillas del músculo esquelético consisten en filamentos gruesos, basados en miosina, y finos, basados en actina.
- Durante la contracción, estos filamentos interdigitalizados se deslizan unos sobre otros con puentes cruzados entre la miosina y la actina, generando y manteniendo la tensión.
- La contracción muscular es impulsada por la inserción cíclica, el desplazamiento conformacional y el desprendimiento de cantidades masivas de dominios de la cabeza de miosina a fibrillas de actina adyacentes.
- La hidrólisis de ATP se usa para controlar el movimiento de los filamentos. El ATP se une a las cabezas de miosina y se hidroliza a ADP y P_i mediante la actividad ATPasa del complejo de actomiosina.
- En el músculo estriado, el aparato contráctil se mantiene bajo control por el complejo troponina (troponinas T, I y C) hasta que la unión de Ca^{2+} a la troponina C alivie la inhibición.
- En el músculo liso, el aparato contráctil se mantiene bajo control por las cadenas ligeras reguladoras en la miosina. Este bloqueo se alivia cuando las cadenas ligeras reguladoras son fosforiladas por una proteína cinasa activada por $Ca^{2+}{}_4$:calmodulina, cinasa de cadena ligera de miosina.
- En el músculo esquelético, el SR regula la distribución de Ca^{2+} a los sarcómeros, mientras que la entrada de Ca^{2+} a través de los canales de Ca^{2+} en el sarcolema es de gran importancia en el músculo cardiaco y liso.
- El Ca^{2+} no sólo inicia la contracción, sino que también activa los sistemas de flujo de calcio que cerrarán la contracción.
- Muchos casos de hipertermia maligna en humanos se deben a mutaciones en el gen que codifica el canal de liberación de Ca^{2+}.
- Algunos casos de miocardiopatía hipertrófica familiar se deben a mutaciones sin sentido en el gen que codifica la cadena pesada de β-miosina. También se han detectado mutaciones en genes que codifican otras proteínas.
- NO es un regulador del músculo liso vascular; el bloqueo de su formación a partir de la arginina causa una elevación aguda de la presión sanguínea, lo que indica que la regulación de la presión sanguínea es una de sus muchas funciones.
- La distrofia muscular tipo Duchenne se debe a mutaciones en el gen, ubicado en el cromosoma X, que codifica la proteína distrofina.
- En los humanos se encuentran dos tipos principales de fibras musculares: blancas (anaeróbicas) y rojas (aeróbicas).
- Las células no musculares contienen una red interna de fibras llamada citoesqueleto que proporciona el aparato mecánico necesario para mantener y cambiar la forma de la célula, la motilidad celular, la fagocitosis, etcétera.
- El citoesqueleto está compuesto por una variedad de filamentos que incluyen microfilamentos basados en actina, microtúbulos que contienen α-tubulina y β-tubulina y filamentos intermedios que contienen laminina, queratina y vimentina.
- Las mutaciones en el gen que codifica lámina A causan progeria, una afección caracterizada por síntomas parecidos al envejecimiento prematuro.
- Las mutaciones en los genes de ciertas queratinas causan una serie de enfermedades de la piel.
- El citoesqueleto proporciona un andamiaje para una variedad de motores moleculares, como cinesina y dineína, que participan en el transporte de vesículas, flujo axonal, movimiento flagelar y cambios morfológicos en la forma de la célula.

REFERENCIAS

Bhasar AP, Guttman JA, Finlay BB. Manipulation of host-cell pathways by bacterial pathogens. *Nature* 207;449:827.

Blanchoin L, Bouiemaa-Paterski R, Sykes C, *et al*. Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility. *Physiol Rev* 2014;94:235.

Kull FJ, Endow SA. Force generation by kinesin and myosin cytoskeleton proteins. *J Cell Sci* 2013;126:9.

Pritchard RH, Shery Huang YY, Terentiev EM. Mechanics of biological networks: from the cell cytoskeleton to connective tissue. *Soft Matter* 2014;10:1864.

Sanders KM. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil* 2008;20(suppl 1):39.

Sequeira V, Nijenkamp LL, Regan JA, *et al*. The physiological role of cardiac cytoskeleton and its alterations in heart failure. *Biochim Biophys Acta* 2014;1838:700.

Sweeney HL, Houdusse A. Structural and functional insights into the myosin motor mechanism. *Annu Rev Biophys* 2010;39:539.

Szent-Gyorgyi AG. The early history of the biochemistry of muscle contraction. *J Gen Physiol* 2004;123:631.

CAPÍTULO 52

Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas

Peter J. Kennelly, PhD, Robert K. Murray, MD, PhD, Molly Jacob, MBBS, MD, PhD y Joe Varghese, MBBS, MD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Hacer una lista de las principales funciones de la sangre.
- Describir las principales funciones de la albúmina sérica.
- Explicar cómo la haptoglobina protege al riñón contra la formación de precipitados de hierro perjudiciales.
- Describir las funciones de la ferritina, la transferrina y la ceruloplasmina en la homeostasis del hierro.
- Describir el mecanismo por el cual la transferrina, los receptores de transferrina y la proteína HFE regulan la síntesis de hepcidina.
- Explicar cómo la homeostasis del hierro puede verse perturbada por deficiencias dietéticas o ciertos trastornos.
- Describir las estructuras y funciones generales de las cinco clases de inmunoglobulinas.
- Explicar cómo se pueden generar hasta un millón de inmunoglobulinas diferentes utilizando menos de 150 genes humanos.
- Describir la activación y el modo de acción del sistema de complemento.
- Comparar y contrastar los sistemas inmune adaptativo e innato.
- Definir el término lectina.
- Resumir las diferencias fundamentales entre anticuerpos policlonales y monoclonales.
- Describir las principales características de los trastornos autoinmunitarios y de inmunodeficiencia.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas que circulan en el plasma sanguíneo juegan un papel importante en la fisiología humana. Las **albúminas** facilitan el tránsito de ácidos grasos, hormonas esteroides y otros ligandos entre los tejidos, mientras que la **transferrina** ayuda a la absorción y distribución del hierro. El **fibrinógeno** circulante sirve como bloque de construcción fácilmente movilizado de la malla de fibrina que proporciona la base de los coágulos utilizados para sellar los vasos lesionados. La formación de estos coágulos se desencadena por una cascada de proteasas latentes, o **zimógenos**, llamadas factores de coagulación sanguínea. El plasma también contiene varias proteínas que funcionan como inhibidores de las enzimas proteolíticas. La **antitrombina** ayuda a limitar la formación de coágulos en las proximidades de una herida, mientras que la α_1-antiproteinasa y la α_2-macroglobulina protegen los tejidos sanos de las proteasas que destruyen los patógenos invasores y eliminan las células muertas o defectuosas. Las inmunoglobulinas circulantes llamadas **anticuerpos** forman la línea frontal del sistema inmune del cuerpo.

Las alteraciones en la producción de proteínas plasmáticas pueden tener graves consecuencias para la salud. Las deficiencias en los componentes fundamentales de la cascada de coagulación de la sangre pueden provocar excesivos hematomas y hemorragias (**hemofilia**). Las personas que carecen de ceruloplasmina en plasma, el principal transportador de cobre del cuerpo, están sujetos a la degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson), mientras que el enfisema se asocia con una deficiencia genética en la producción de α_1-antiproteinasa circulante. Más de uno de cada 30 residentes de América del Norte sufre de un **trastorno autoinmune**, como diabetes tipo 1, asma y artritis reumatoide, como resultado de la producción de inmunoglobulinas aberrantes (consúltese **cuadro 52-1**). Las insuficiencias en la producción de anticuerpos protectores, como las que se producen en muchos individuos infec-

CUADRO 52-1 Prevalencia de enfermedades autoinmunes seleccionadas entre la población de Estados Unidos

Enfermedad autoinmune	Tasa de prevalencia media (por cada 100 000)	Porcentaje en sexo femenino
Enfermedad de Graves/ hipertiroidismo	1 152	88
Artritis reumatoide	860	75
Tiroiditis/hipotiroidismo	792	95
Vitiligo	400	52
Diabetes tipo 1	192	48
Anemia perniciosa	151	67
Esclerosis múltiple	58	64
Glomerulonefritis primaria	40	32
Lupus eritematoso sistémico	24	88
Glomerulonefritis por IgA	23	67
Síndrome de Sjogren	14	94
Miastenia gravis	5	73
Enfermedad de Addison	5	93
Esclerodermia	4	92

Fuente: Tomado de: Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR, *et al*. Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *J Clin Immunol Immunopathol* 1997;84:223.

tados por el **virus de la inmunodeficiencia humana** (HIV, *human immunodeficiency virus*) o en pacientes que reciben fármacos inmunosupresores, los hacen inmunodeprimidos, extremadamente susceptibles a la infección por patógenos microbianos y virales. Si bien las enfermedades relacionadas con las proteínas plasmáticas, como la hemofilia, tienen causas relativamente sencillas, otras —en particular muchas enfermedades autoinmunes— surgen debido a la interacción compleja y críptica de factores genéticos, dietéticos, nutricionales, ambientales y médicos.

LA SANGRE TIENE MUCHAS FUNCIONES

Como principal vía por la cual los tejidos se conectan entre sí y con el ambiente circundante, la sangre que circula por todo nuestro cuerpo realiza una variedad de funciones. Estas incluyen el suministro de nutrientes y oxígeno, la eliminación de productos de desecho, el transporte de hormonas y la defensa contra microorganismos infecciosos (consúltese **cuadro 52-2**). Estas innumerables funciones se llevan a cabo mediante un conjunto diverso de componentes que incluyen entidades celulares como glóbulos rojos, plaquetas y leucocitos (véanse los capítulos 53 y 54) y el agua, los electrolitos, los metabolitos, los nutrientes, las proteínas y las hormonas que componen el **plasma.**

CUADRO 52-2 Principales funciones de la sangre

1. **Respiración.** Transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos y de CO_2 desde los tejidos a los pulmones
2. **Nutrición.** Transporte de materiales alimenticios absorbidos
3. **Excreción:** Transporte de desechos metabólicos a los riñones, los pulmones, la piel y los intestinos para su eliminación
4. Mantenimiento del **equilibrio ácido-base** normal en el cuerpo
5. Regulación del **balance hídrico** a través de los efectos de la sangre en el intercambio de agua entre el fluido circulante y el fluido tisular
6. Regulación de la **temperatura corporal** mediante la distribución del calor corporal
7. **Defensa** contra las infecciones por los glóbulos blancos y los anticuerpos circulantes
8. Transporte de **hormonas** y regulación del metabolismo
9. Transporte de **metabolitos**
10. **Coagulación**

EL PLASMA CONTIENE UNA COMPLEJA MEZCLA DE PROTEÍNAS

El plasma contiene una compleja mezcla de proteínas. Los primeros científicos clasificaron estas proteínas en tres grupos, **fibrinógeno, albúmina** y **globulinas**, sobre la base de su solubilidad relativa en presencia de disolventes orgánicos añadidos como el etanol o agentes salinos como el sulfato de amonio. Posteriormente, los científicos clínicos emplearon la electroforesis dentro de una matriz de **acetato de celulosa** para analizar la composición proteica del plasma. Usando esta técnica, la fracción proteica en suero soluble en sal se separó en cinco componentes principales denominados albúmina y las α_1-, α_2-, β- y γ-**globulinas**, respectivamente (consúltese **figura 52-1**). Las proteínas plasmáticas tienden a ser ricas en enlaces disulfuro y con frecuencia contienen carbohidratos unidos (**glucoproteínas**) o lípidos (**lipoproteínas**). Las dimensiones relativas y las masas moleculares de varias proteínas plasmáticas se muestran en la **figura 52-2**.

Las proteínas plasmáticas ayudan a determinar la distribución del líquido entre la sangre y los tejidos

La concentración agregada de las proteínas presentes en el plasma humano suele estar en el rango de 7 a 7.5 g/dL. La **presión osmótica** resultante (presión oncótica) es de aproximadamente 25 mm Hg. Dado que la **presión hidrostática** en las arteriolas es de aproximadamente 37 mm Hg, con una presión intersticial (tejido) de 1 mm Hg que se opone a ella, una fuerza neta hacia afuera de aproximadamente 11 mm Hg impulsa el fluido desde el plasma a los espacios intersticiales. Por el contrario, la presión hidrostática en las vénulas es de aproximadamente 17 mm Hg; por tanto, una fuerza neta de aproximadamente 9 mm Hg impulsa el agua desde los tejidos hacia la circulación. Las anteriores presiones a menudo se conocen como **fuerzas de Starling**. Si la concentración de proteínas plasmáticas disminuye notablemente (p. ej., debido a la malnutri-

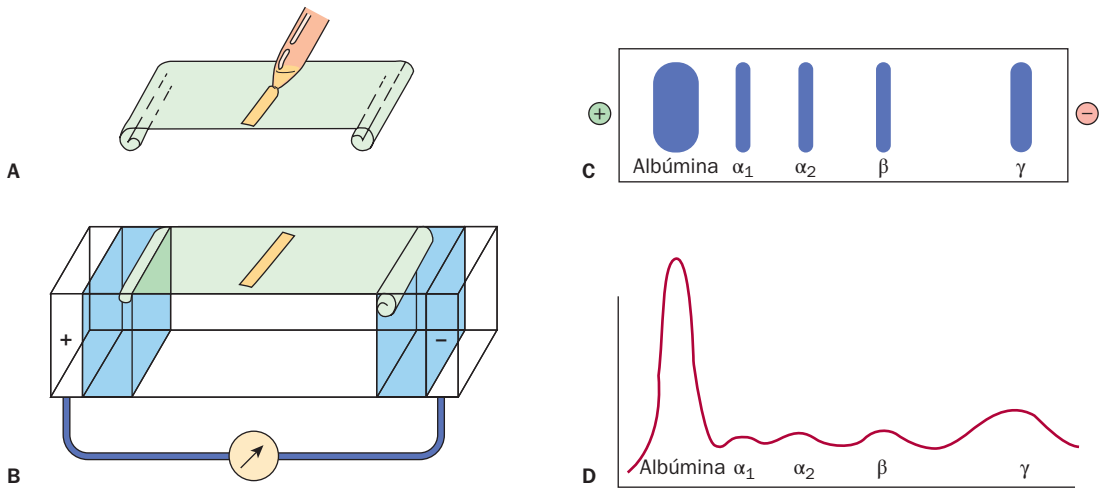


FIGURA 52-1 **Técnica de electroforesis de zona de acetato de celulosa. A)** Se aplica una pequeña cantidad de suero u otro fluido a una tira de acetato de celulosa. **B)** Se realiza electroforesis en tampón electrolítico. **C)** La tinción permite visualizar bandas separadas de proteínas. **D)** El escaneo del densitómetro revela las movilidades relativas de albúmina, α_1-globulina, β_2-globulina, β-globulina y γ-globulina. (Reproducido con permiso de Parslow TG, *et al* (eds.). *Medical Immunology*, 10a. ed. McGraw-Hill; 2001).

ción proteica grave), el líquido dejará de fluir de nuevo al compartimiento intravascular y comenzará a acumularse en los espacios del tejido extravascular, lo que da como resultado una afección conocida como **edema**.

La mayoría de las proteínas plasmáticas se sintetiza en el hígado

Un aproximado 70 a 80% de todas las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado. Estas incluyen albúmina, fibrinógeno, transferrina y la mayoría de los componentes del complemento y las cascadas de la coagulación sanguínea. Dos importantes excepciones son el factor Von Willebrand, que se sintetiza en el endotelio vascular, y las γ-globulinas, que se sintetizan en los linfocitos. La mayoría de las proteínas plasmáticas se modifican covalentemente mediante la adición de cadenas de oligosacáridos unidas por enlace O-ligados o N-ligados, o ambas (véase el capítulo 46). La albúmina es la principal excepción. Estas cadenas de oligosacáridos cumplen una variedad de funciones (véase cuadro 46-2). La pérdida de residuos terminales de ácido siálico acelera el aclaramiento de las glucoproteínas plasmáticas de la circulación.

Como es el caso de otras proteínas destinadas a la secreción de una célula, los genes de las proteínas plasmáticas codifican una **secuencia señal** amino terminal que los dirige al retículo endoplásmico. A medida que esta secuencia líder emerge del ribosoma, se une a un complejo proteico transmembrana en el retículo endoplásmico llamado partícula de reconocimiento de señal. La cadena polipeptídica emergente es atraída a través de la **partícula de reconocimiento de señal** a la luz del retículo endoplasmático, durante cuyo proceso una **peptidasa de señal** asociada escinde la secuencia líder (véase el capítulo 49). Las proteínas recién sintetizadas atraviesan entonces la ruta secretora principal de la célula (membrana endoplásmica rugosa → membrana endoplásmica lisa → complejo de Golgi → vesículas secretoras) antes de entrar en el plasma, proceso durante el cual están sujetas a diversas modificaciones postraduccionales (proteólisis, glucosilación, fosforilación, etcétera). Los tiempos de tránsito desde el sitio de síntesis en el hepatocito hasta el plasma varían de 30 minutos a varias horas para las proteínas individuales.

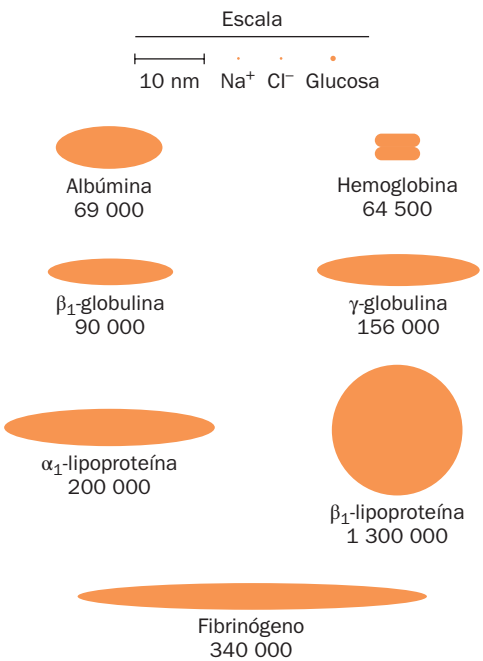


FIGURA 52-2 **Dimensiones relativas y masas moleculares aproximadas de moléculas de proteínas en la sangre.**

Muchas proteínas plasmáticas exhiben polimorfismo

El **polimorfismo** es un rasgo mendeliano o monogénico que existe en la población en al menos dos fenotipos, ninguno de los cuales es raro (es decir, ocurre con una frecuencia de 1-2% como mínimo). La mayoría de los polimorfismos son inocuos. Las sustancias del grupo sanguíneo ABO (véase capítulo 53) son quizás el ejemplo más conocido de polimorfismo humano. Otras proteínas plasmáticas humanas que exhiben polimorfismo incluyen α_1-antitripsina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina e inmunoglobulinas.

Cada proteína plasmática tiene una vida media característica en la circulación

La **vida media** de una proteína plasmática es el tiempo requerido para que 50% de las moléculas presentes en un momento dado se degraden o se eliminen de la sangre. Por ejemplo, la vida media de la albúmina y la haptoglobina en adultos sanos es de aproximadamente 20 y 5 días, respectivamente. En circunstancias normales, a medida que se eliminan las moléculas de proteína más antiguas, estas son reemplazadas por otras recién sintetizadas, en un proceso llamado **renovación**. Durante el recambio normal, la concentración total de estas proteínas permanecerá constante a medida que los procesos compensatorios de síntesis y eliminación alcancen un **estado estable**.

En ciertas enfermedades, la vida media de una proteína puede alterarse de manera notable. Por ejemplo, en algunas enfermedades gastrointestinales como la ileítis regional (enfermedad de Crohn), se pueden perder cantidades considerables de proteínas plasmáticas, incluida la albúmina en el intestino a través de la mucosa intestinal inflamada. La vida media de la albúmina en estos sujetos puede reducirse a tan sólo 1 día, una afección llamada **gastroenteropatía perdedora de proteínas**.

LA ALBÚMINA ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL PLASMA HUMANO

El hígado sintetiza aproximadamente 12 g de albúmina por día, lo que representa alrededor de 25% de la síntesis de proteína hepática total y la mitad de su proteína secretada. Cerca de 40% de la albúmina del cuerpo circula en el plasma, donde representa aproximadamente tres quintos del total de proteína plasmática en peso (3.4-4.7 g/dL). El resto reside en el espacio extracelular. Debido a su masa molecular relativamente baja (un aproximado de 69 kDa) y su alta concentración, se cree que la albúmina contribuye de 75 a 80% con la **presión osmótica** del plasma humano. Como la mayoría de las otras proteínas secretadas, la albúmina se sintetiza inicialmente como una **preproteína**. Su **péptido señal** se elimina a medida que pasa a las cisternas del retículo endoplásmico rugoso. Un segundo **hexapéptido** se escinde desde el nuevo extremo N a lo largo de la ruta secretora.

La albúmina humana madura consiste en una sola cadena polipeptídica, de 585 aminoácidos de longitud, que está organizada en tres dominios funcionales. Su conformación elipsoidal está estabilizada por un total de 17 enlaces disulfuro intracatenarios. Una función importante de la albúmina es unirse y transportar numerosos **ligandos**. Estos incluyen ácidos grasos libres (FFA, *free fatty acids*), calcio, ciertas hormonas esteroides, bilirrubina, cobre y triptófano. Una variedad de medicamentos, como sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina, también se unen a la albúmina; un hallazgo con importantes implicaciones farmacológicas. Las preparaciones de albúmina humana se han usado de manera amplia en el tratamiento de quemaduras y de choque hemorrágico.

Algunos humanos sufren mutaciones genéticas que afectan su capacidad para sintetizar albúmina. Se dice que las personas cuyo plasma está completamente desprovisto de albúmina tienen **analbuminemia**. Sorprendentemente, las personas que sufren de analbuminemia muestran sólo edema moderado. La síntesis deprimida de albúmina también ocurre en una variedad de enfermedades, particularmente las del hígado. El plasma de pacientes con **enfermedad hepática** a menudo muestra una disminución en la relación de albúmina a globulinas (disminución de la relación albúmina-globulina). La síntesis de albúmina disminuye relativamente temprano en condiciones de malnutrición proteica, como el **kwashiorkor**.

LOS NIVELES DE CIERTAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS AUMENTAN DURANTE INFLAMACIÓN O TRAS DAÑO TISULAR

El **cuadro 52-3** resume las funciones de muchas de las proteínas plasmáticas. La **proteína C-reactiva** (CRP [*C-reactive protein*], llama-

CUADRO 52-3 Algunas funciones de las proteínas plasmáticas

Función	Proteínas plasmáticas
Antiproteasas	Antiquimotripsina α_1-antitripsina (α_1-antiproteinasa) α_2-macroglobulina Antitrombina
Coagulación de la sangre	Diversos factores de coagulación, fibrinógeno
Enzimas	Función en sangre, por ejemplo, factores de coagulación, colinesterasa Fuga de células o tejidos, por ejemplo, aminotransferasas
Hormonas	Eritropoyetina[a]
Defensa inmune	Inmunoglobulinas, proteínas del complemento y β_2-macroglobulina
Participación en respuestas inflamatorias	Proteínas de respuesta de fase aguda (p. ej., proteína C reactiva, glicoproteína ácida α_1 [orosomucoide])
Oncofetal	α_1-fetoproteína (AFP, *α_1-fetoprotein*)
Transporte o unión de proteínas	Albúmina (varios ligandos, incluyendo bilirrubina, ácidos grasos libres, iones [Ca^{2+}], metales [p. ej., Cu^{2+}, Zn^{2+}], metahemoglobina, esteroides, otras hormonas y una variedad de fármacos) Globulina de unión a corticosteroides (transcortina) (se une al cortisol) Haptoglobina (se une a hemoglobina extracorpuscular) Lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL) Hemopexina (se une a hemo) Proteína de unión a retinol (se une a retinol) Globulina de unión a hormonas sexuales (se une a testosterona, estradiol) Globulina fijadora de tiroides (se une a T_4, T_3) Transferrina (transporte de hierro) Transtirretina (anteriormente prealbúmina, se une a T_4 y forma un complejo con proteína de unión a retinol)

[a] Otras hormonas proteicas circulan en la sangre, pero generalmente no se designan como proteínas plasmáticas. Del mismo modo, la ferritina también se encuentra en el plasma en pequeñas cantidades, pero tampoco suele caracterizarse como una proteína plasmática.

da así porque reacciona con el polisacárido C de los neumococos), la α_1-antiproteinasa, la haptoglobina, la α_1-glicoproteína ácida y el fibrinógeno se clasifican como proteínas de fase aguda. Se cree que las **proteínas de fase aguda** desempeñan un papel en la respuesta del cuerpo a la inflamación. La proteína C-reactiva estimula la vía del complemento (véase a continuación), mientras que la α_1-antitripsina neutraliza ciertas proteasas liberadas durante la inflamación aguda.

Los niveles de proteínas de fase aguda pueden aumentar en 50% hasta 1 000 veces (en el caso de la CRP) durante estados inflamatorios crónicos y en pacientes con cáncer. La **interleucina 1 (IL-1)**, un polipéptido liberado de las células fagocíticas mononucleares, es el estimulador principal, pero no el único, de la síntesis de reactantes de fase aguda por los hepatocitos. También participan otras moléculas adicionales como IL-6. Debido a que su concentración puede aumentar de manera intensa, la CRP se usa como un biomarcador de lesión tisular, infección e inflamación.

Las pequeñas proteínas como interferones, IL y factores de necrosis tumoral que facilitan la comunicación célula-célula entre los componentes del sistema inmune se llaman citocinas. Las **citocinas** pueden ser de naturaleza tanto autocrina como paracrina. Uno de los objetivos principales de IL-1 e IL-6 es el **factor nuclear kappa-B** (**NFκB,** ***nuclear factor kappa-B***), un factor de transcripción que regula la expresión de los genes que codifican muchas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión celular. NFκB, un heterodímero compuesto por un polipéptido de 50 y 65 kDa, normalmente reside en el citosol como un complejo inactivo con una segunda proteína, el inhibidor de NFκB-α, también conocido como IκBα. Cuando se estimula por inflamación, lesión o radiación, el IκBα se fosforila y se dirige a ubiquitinación y degradación. Una vez liberado de su compañero inhibidor, el NFκB activo se transloca al núcleo donde estimula la transcripción de sus genes blanco.

LA HAPTOGLOBINA PROTEGE LOS RIÑONES

El hierro en eritrocitos senescentes es reciclado por los macrófagos

Los eritrocitos normalmente tienen una vida útil de aproximadamente 120 días. Los eritrocitos senescentes o dañados son fagocitados por los macrófagos del sistema reticuloendotelial (RES, *reticuloendothelial system*) presentes en el bazo y el hígado. Alrededor de 200 mil millones de eritrocitos se catabolizan todos los días. Dentro del macrófago, la enzima hemooxigenasa convierte el hemo derivado de la hemoglobina a biliverdina (véase figura 31-13) y se liberan hierro y monóxido de carbono como subproductos. El hierro liberado del hemo se exporta a partir de vesículas fagocíticas en los macrófagos mediante **NRAMP 1** (proteína 1 natural de macrófago asociada a la resistencia [*natural resistance–associated macrophage protein 1*]), un transportador homólogo a DMT1. Luego, la proteína transmembrana ferroportina secreta el hierro en la circulación (véase **figura 52-3**). Por tanto, la ferroportina juega un papel central tanto en la absorción de hierro por el intestino como en la secreción de hierro de los macrófagos.

En la sangre, el Fe^{2+} se oxida a Fe^{3+} en una reacción que cataliza la ferrioxidasa **ceruloplasmina** (véase a continuación), una enzima plasmática que contiene cobre sintetizada por el hígado. Una vez oxidado, Fe^{3+} se une a la transferrina en la sangre. El hierro liberado de los macrófagos de esta forma (aproximadamente 25 mg/d) se recicla, lo que reduce la necesidad de absorción intestinal de hierro, que promedia sólo de 1 a 2 mg/d.

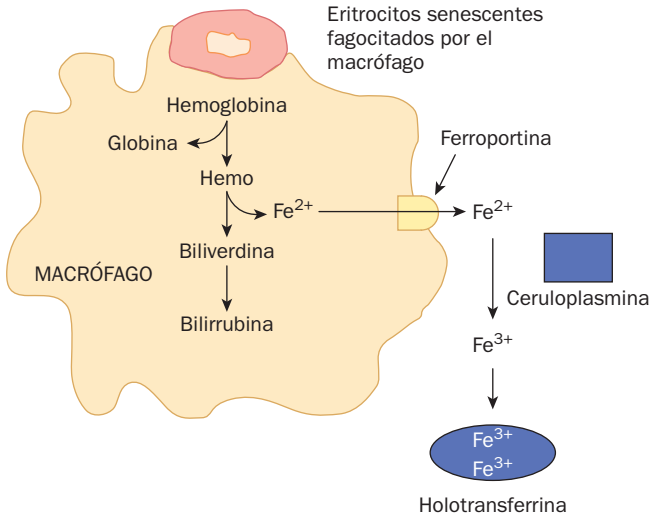


FIGURA 52-3 Reciclaje de hierro en macrófagos. Los eritrocitos senescentes son fagocitados por los macrófagos. La hemoglobina se degrada y el hierro se libera del hemo por la acción de la enzima hemooxigenasa. El hierro ferroso se transporta luego fuera del macrófago a través de la ferroportina (Fp, *ferroportin*). En el plasma, se oxida a la forma férrica mediante ceruloplasmina antes de unirse a la transferrina (Tf, *transferrin*). El hierro circula en sangre estrechamente unido a Tf.

La haptoglobina elimina la hemoglobina que ha escapado del reciclaje

Durante el curso del recambio de glóbulos rojos, aproximadamente 10% de la hemoglobina de un eritrocito escapa a la circulación. Esta hemoglobina **extracorpuscular** libre es suficientemente pequeña a ≈65 kDa para pasar a través del glomérulo del riñón hacia los túbulos, donde tiende a formar precipitados dañinos. La **haptoglobina** (Hp, *haptoglobin*) es una glucoproteína plasmática que se une a la hemoglobina (Hb, *hemoglobin*) extracorpuscular y forma un complejo no covalente (Hb-Hp). La haptoglobina humana existe en **tres formas polimórficas**, conocidas como Hp 1-1, Hp 2-1 y Hp 2-2, que reflejan los patrones de herencia de dos genes, denominados Hp^1 y Hp^2. Los homocigotos sintetizan Hp 1-1 o Hp 1-2, respectivamente, mientras que los heterocigotos sintetizan Hp 2-1.

Por lo general, el nivel de haptoglobina en un decilitro de plasma humano es suficiente para unir 40 a 180 mg de hemoglobina. Dado que el complejo de Hb-Hp resultante es demasiado grande (≥155 kDa) para pasar a través del glomérulo, el riñón está protegido de la formación de precipitados perjudiciales mientras que la pérdida de hierro asociada con la hemoglobina extracorpópica se reduce.

Algunas otras proteínas plasmáticas se **unen a hemo**, pero no a la hemoglobina. Incluyen una β_1-globulina hemopexina, que se une al hemo libre, y la **albúmina**, que se une a metahemoglobina (hemo férrico) para formar metahemalbúmina. La metahemalbumina posteriormente transfiere esta metahemoglobina a hemopexina.

La haptoglobina puede servir como un indicador de diagnóstico

En situaciones donde la hemoglobina se libera constantemente de los glóbulos rojos, como ocurre en las anemias hemolíticas, el nivel de haptoglobina puede disminuir drásticamente. Esta disminución refleja la marcada diferencia en la vida media de haptoglobina libre, aproximadamente 5 días, y la del complejo Hb-Hp, alrededor de 90 minutos. El nivel de **proteína relacionada con la haptoglobina**, un homólogo de la haptoglobina también presente en el plasma, es elevado en algunos pacientes con cáncer, aunque no se comprende su importancia.

EL HIERRO ES ESTRICTAMENTE CONSERVADO

El **hierro** es un componente clave de muchas proteínas humanas, incluidas la hemoglobina, la mioglobina, el grupo de enzimas del citocromo P450, numerosos componentes de la cadena de transporte de electrones y la ribonucleótido reductasa, que cataliza la conversión de ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos. El hierro corporal, que se distribuye como se muestra en el **cuadro 52-4**, se conserva en alto grado. Un adulto sano pierde de 1 a 1.5 mg (<0.05%) de sus 3 a 4 g de hierro corporal por día. Sin embargo, una mujer premenopáusica adulta puede experimentar deficiencia de hierro debido a la pérdida de sangre durante la menstruación.

CUADRO 52-4 Distribución de hierro en un hombre[a] adulto de 70 kg

Transferrina	3-4 mg
Hemoglobina en glóbulos rojos	2 500 mg
En mioglobina y diversas enzimas	300 mg
En almacenamientos (ferritina)	1 000 mg
Absorción	1 mg/d
Pérdidas	1 mg/d

[a] En una mujer adulta de peso similar, la cantidad en almacenamientos generalmente sería menor (100-400 mg) y las pérdidas serían mayores (1.5-2 mg/d).

Los enterocitos pueden absorber hierro de la dieta en su forma Fe^{2+} libre y ferrosa, o como hemo. La absorción de hierro no hemo por los enterocitos del duodeno proximal es un proceso muy regulado (consúltese **figura 52-4**). La transferencia de hierro a través de la membrana apical de los enterocitos está mediada por el **transportador de metal divalente 1 (DMT1 o SLC11A2)**, un transportador relativamente inespecífico que también transmite Mn^{2+}, Co^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} y Pb^{2+}. Dado que DMT1 es específico para iones metálicos divalentes, el hierro férrico libre (Fe^{3+}) se debe convertir a su forma ferrosa (Fe^{2+}) mediante agentes reductores ingeridos, como la vitamina C, o enzimáticamente mediante la ferrirreductasa unida a la membrana de borde en cepillo, **citocromo b duodenal**

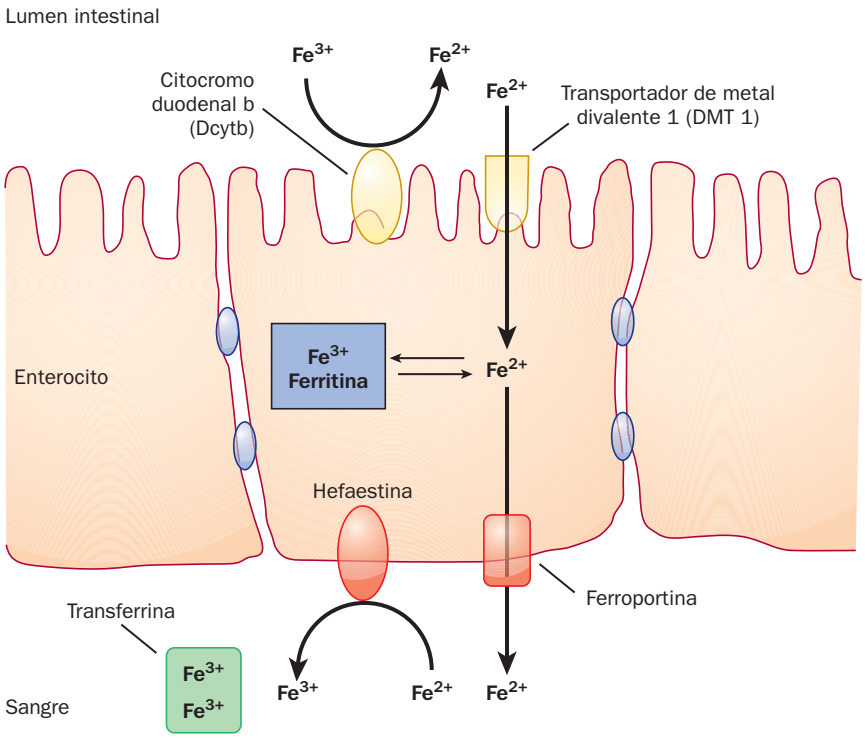


FIGURA 52-4 Transporte de hierro no hemo en enterocitos. El hierro férrico se reduce a la forma ferrosa por una ferrireductasa luminal, citocromo b duodenal (Dcytb). El hierro ferroso se transporta al enterocito a través del transportador de metal divalente 1 (DMT1, *divalent metal transporter 1*). Dentro del enterocito, el hierro se almacena como ferritina o se transporta fuera de la célula mediante ferroportina (Fp). El hierro ferroso es oxidado a su forma férrica por la hefaestina. El hierro férrico se une luego por la transferrina para su transporte por la sangre a varios sitios en el cuerpo. (Basado en Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008;112;219).

(**Dcytb,** ***duodenal cytochrome b***). El hierro unido al hemo absorbido se libera mediante la acción enzimática de la hemooxigenasa (véase capítulo 31).

Una vez dentro de los enterocitos, el hierro puede almacenarse unido a la proteína de almacenamiento de hierro **ferritina** o transferirse a través de la membrana basolateral por la proteína exportadora de hierro **ferroportina**, también conocida como **proteína 1 regulada por hierro (IREG1** o **SLC40A1**). En el plasma, el hierro se transporta en forma de Fe^{3+} unido a la proteína de transporte, la **transferrina**. La **hefaestina**, una ferroxidasa que contiene cobre homóloga a la ceruloplasmina, oxida Fe^{2+} a Fe^{3+} antes de la exportación. Cualquier exceso de hierro unido a ferritina que permanezca en los enterocitos se desecha cuando se desprenden en la luz intestinal.

La ferritina puede unir miles de átomos de Fe^{3+}

El cuerpo humano normalmente puede almacenar hasta 1 g de hierro, en su gran mayoría ligado a la ferritina. La **ferritina** (MW 440 kDa) forma una bola hueca compuesta por dos docenas de subunidades polipeptídicas de ≈19-21 kDa que pueden encapsular de 3 000 hasta 4 500 átomos férricos. Las subunidades pueden ser del tipo H (pesado [*heavy*]) o L (ligero [*light*]). La subunidad H posee actividad de ferroxidasa, que se requiere para la carga de hierro de la ferritina. Se propone que la subunidad L desempeña un papel en la nucleación y estabilización de la ferritina. Por lo general, una pequeña cantidad de ferritina está presente en el plasma humano (50-200 µg/dL) proporcional a las reservas totales de hierro en el cuerpo. Por tanto, los niveles de ferritina en plasma se usan como un indicador de las **reservas de hierro corporal**. Sin embargo, no se sabe si la ferritina en el plasma se deriva de las células dañadas o de la secreción de las células sanas. Además, la **hemosiderina**, una forma de ferritina parcialmente degradada, puede aparecer en los tejidos en condiciones de sobrecarga de hierro (**hemosiderosis**).

La transferrina lanza hierro a donde se necesita

La toxicidad del hierro libre es en gran medida consecuencia de su capacidad para inducir la formación de especies dañinas de oxígeno reactivo (consúltese **figura 52-5**). Los organismos biológicos minimizan la toxicidad potencial del hierro mediante el empleo de proteínas de almacenamiento y transporte especializadas, y manteniéndolo en su estado Fe^{3+} menos reactivo durante el transporte. Los seres humanos transportan el hierro a través de la circulación estrechamente unido a la **transferrina (Tf)**, una glucoproteína sintetizada por el hígado. Esta β_1-globulina tiene una masa molecular de aproximadamente 76 kDa y contiene dos sitios de unión de alta afinidad para Fe^{3+}. La glucosilación de la transferrina está alterada en los **trastornos congénitos de la glicosilación** (véase capítulo 46) o en el alcoholismo **crónico**. Por tanto, la **transferrina deficiente en carbohidratos** (**CDT,** ***carbohydrate-deficient transferrin***) a veces se usa como biomarcador del alcoholismo crónico.

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^{-}$$

FIGURA 52-5 **La reacción de Fenton.** El hierro libre es extremadamente tóxico ya que puede catalizar la formación de radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$) a partir del peróxido de hidrógeno (véase también el capítulo 53). El radical hidroxilo es una especie transitoria pero altamente reactiva y que oxida las macromoléculas celulares dando como resultado un daño tisular.

La concentración de Tf en plasma es de aproximadamente 300 mg/dL, suficiente para transportar un total aproximado de 300 µg de hierro por decilitro de plasma. Esta figura representa la **capacidad total de unión al hierro** (**TIBC,** ***total iron-binding capacity***) del plasma. Por lo común, alrededor de 30% de los sitios de unión al hierro en la transferrina están ocupados. La ocupación puede disminuir a menos de 16% durante la deficiencia de hierro grave y puede aumentar a más de 45% en condiciones de sobrecarga de hierro.

El ciclo de la transferrina facilita la absorción celular de hierro

Para la entrega de hierro transportado, la célula receptora debe unir la transferrina circulante a través de un receptor de superficie celular, el **receptor de transferrina 1** (**TfR1,** ***transferrin receptor 1***). El complejo receptor-transferrina se internaliza mediante **endocitosis mediada por receptor** (véase capítulo 25) y el hierro unido se libera a medida que los endosomas tardíos se acidifican. El hierro libre sale del endosoma a través de DMT1 y entra en el citoplasma. El apoTf (Tf sin hierro ligado) se recicla. Primero, el receptor de transferrina regresa a la membrana plasmática con apoTf todavía unido. Al alcanzar la superficie de la célula, el apoTf se disocia del receptor y vuelve a entrar en el plasma, donde recoge más hierro para administrarlo a las células. Esto se llama **ciclo de la transferrina** (obsérvese **figura 52-6**).

Mientras que el receptor de transferrina 1 se encuentra en la superficie de la mayoría de las células, **el receptor de transferrina 2** (**TfR2**) homólogo se encuentra principalmente en la superficie de los hepatocitos y las células de la cripta del intestino delgado. La afinidad de TfR2 por Tf-Fe es mucho menor que la de TfR1, lo que optimiza la primera como sensor, en lugar de importador, para el hierro.

La oxidación por ceruloplasmina es una característica clave del ciclo del hierro

Los macrófagos desempeñan un papel clave en la renovación de los glóbulos rojos. Después de la fagocitosis y la digestión a través de hidrolasas lisosomales, el hierro es expulsado principalmente en el estado ferroso, Fe^{2+}. Para ser recuperado a través del ciclo de la transferrina, este hierro debe ser oxidado al estado férrico, Fe^{3+}, por la ferroxidasa ceruloplasmina, una α_2-globulina de 160 kDa sintetizada por el hígado. Con seis átomos de cobre catalíticamente esenciales, la **ceruloplasmina** es la principal proteína que contiene cobre en el plasma.

Deficiencias en la ceruloplasmina altera la homeostasis de hierro

La deficiencia de ceruloplasmina puede deberse a causas genéticas y a la falta de cobre, un micronutriente esencial en la dieta. Cuando faltan las cantidades adecuadas de ceruloplasmina catalíticamente funcional, se deteriora la capacidad del cuerpo para reciclar Fe^{2+}, lo que lleva a la acumulación de hierro en los tejidos. Mientras que las personas que padecen **hipoceruloplasmenia**, una afección genéticamente hereditaria en la que los niveles de ceruloplasmina son aproximadamente 50% de lo normal, suelen no mostrar anomalías clínicas, las mutaciones genéticas que suprimen la actividad ferroxidasa de ceruloplasmina, **aceruloplasminemia**, pueden tener graves consecuencias fisiológicas. Si no se trata, la acumulación

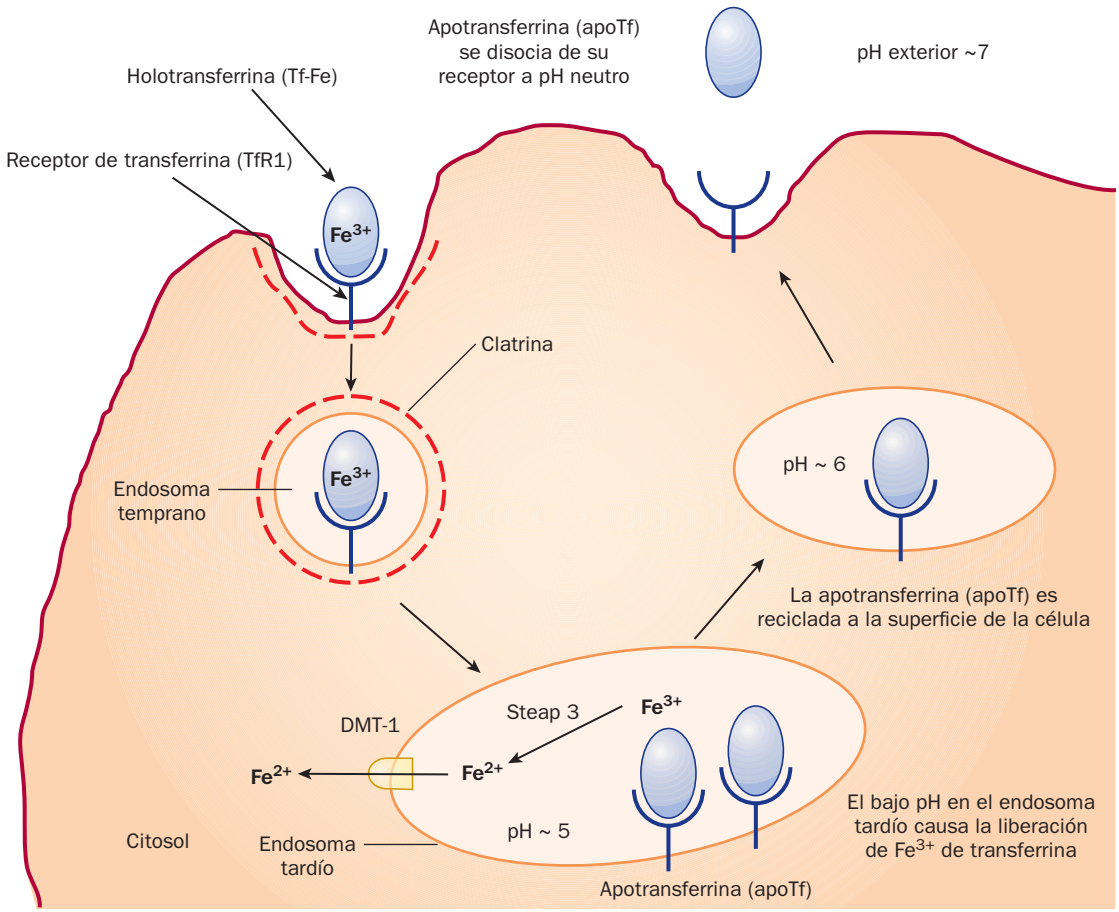


FIGURA 52-6 **Ciclo de la transferrina.** La holotransferrina (Tf-Fe) se une al receptor 1 de transferrina (TfR1) presente en los hoyos recubiertos de clatrina en la superficie celular. El complejo TfR1-Tf-Fe se endocitosa y las vesículas endocíticas se fusionan para formar endosomas tempranos. Los endosomas tempranos maduran en endosomas tardíos, que tienen un pH interno bajo. Estas condiciones ácidas causan la liberación de hierro de la transferrina. La apotransferrina resultante (apoTf) permanece unida a TfR1. El hierro férrico se convierte en su forma ferrosa por la ferrireductasa, Steap 3, y luego se transporta al citosol a través de DMT1. El complejo TfR1-apo-Tf se recicla de nuevo a la superficie de la célula. En la superficie celular, apoTf se libera de TFR1. El TfR1 luego se une al nuevo Tf-Fe. Esto completa el ciclo de transferrina.

progresiva de hierro en las células de los islotes pancreáticos y los ganglios basales finalmente conduce al desarrollo de diabetes insulinodependiente y la degeneración neurológica que puede manifestarse como demencia, disartria y distonía.

Disminución de los niveles de ceruloplasmina en la enfermedad de Wilson

En la **enfermedad de Wilson**, una mutación en el gen de una **ATPasa de tipo P de unión al cobre** (proteína ATP7B) bloquea la excreción de exceso de cobre en la bilis. Como consecuencia, el cobre se acumula en hígado, cerebro, riñón y glóbulos rojos. De manera paradójica, el aumento de los niveles de cobre en hígado aparentemente interfiere con la incorporación de este metal en polipéptidos de ceruloplasmina recién sintetizados (apoceruloplasma), lo que conduce a una disminución de los niveles de ceruloplasmina en el plasma. Si no se trata, los pacientes que padecen esta forma de **toxicosis por cobre** pueden desarrollar una anemia hemolítica o una enfermedad hepática crónica (cirrosis y hepatitis). La acumulación de cobre en los ganglios basales y otros centros puede conducir a síntomas neurológicos. La enfermedad de Wilson se puede tratar con limitación de la ingesta dietética de cobre mientras se agota el exceso de cobre mediante la administración regular de **penicilamina**, que quela el cobre y posteriormente se excreta en la orina.

LA HOMEOSTASIS DE HIERRO INTRACELULAR ESTÁ MUY REGULADA

La síntesis de TfR1 y ferritina se regula recíprocamente

La síntesis de TfR1 y ferritina se relaciona recíprocamente con los niveles de hierro intracelular. Cuando el hierro es bajo, la tasa de síntesis de TfR1 aumenta y la de la ferritina disminuye. Ocurre lo contrario cuando el hierro es abundante y las necesidades de tejido se han saciado. El control se ejerce mediante la unión de proteínas reguladoras de hierro (IRP, *iron regulatory proteins*) a estructuras de bucle en horquilla llamadas **elementos de respuesta de hierro** (**IRE,**

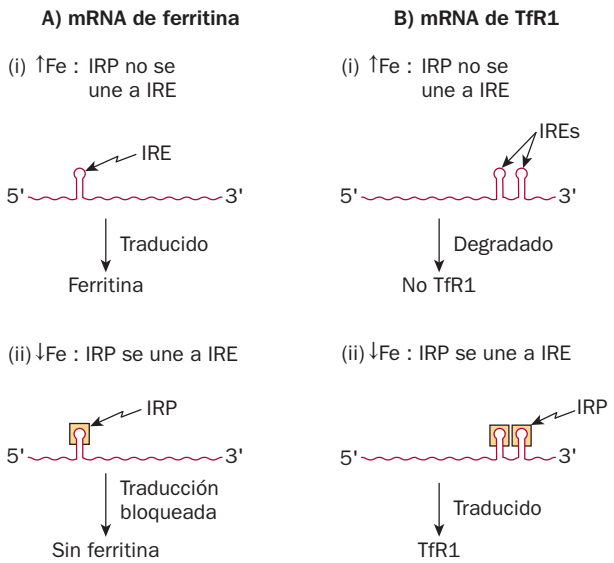


FIGURA 52-7 Representación esquemática de la relación recíproca entre la síntesis de ferritina y el receptor de transferrina (TfR1). El mRNA de la ferritina se representa a la izquierda y el de TfR1 a la derecha del diagrama. A altas concentraciones de hierro, el hierro unido a IRP impide que la proteína se una a los IRE en cualquier tipo de mRNA. El mRNA de la ferritina puede traducirse en estas circunstancias, y la ferritina se sintetiza. Por otro lado, cuando la IRP no puede unirse al IRE en el mRNA de TfR1, ese mRNA se degrada. Por el contrario, a bajas concentraciones de hierro, la IRP puede unirse a los IRE en ambos tipos de mRNA. En el caso del mRNA de ferritina, esto impide que se traduzca. Por tanto, la ferritina no se sintetiza. En el caso del mRNA para TfR1, la unión de la IRP evita que el mRNA se degrade, lo que permite que se traduzca y que se sintetice TfR1. IRE: elemento de respuesta de hierro; IRP: proteína reguladora del hierro.

iron response elements) ubicados en las regiones 5′ y 3′ no traducidas (UTR, *untranslated regions*) de los mRNA que codifican ferritina y TfR1, respectivamente (consúltese **figura 52-7**). Las IRP se unen a los IRE sólo cuando los niveles de hierro intracelular son bajos. La unión en 3′ UTR del mRNA para TfR1 la estabiliza, lo que aumenta la síntesis de TfR1, mientras que la unión de una IRP a un IRE situada en la 5′ UTR del mRNA de ferritina bloquea la traducción. Del mismo modo, cuando los niveles de hierro son altos, los IRB se disocian. En estas circunstancias, se facilita la traducción del mRNA de ferritina y el mRNA de TfR1 se degrada rápidamente.

La hepcidina es el principal regulador de homeostasis sistémica de hierro

El péptido **hepcidina** de 25 aminoácidos juega un papel central en la homeostasis del hierro. Sintetizada en el hígado como un precursor de 84 aminoácidos (prohepcidina), la **hepcidina se une a la ferroportina, exportador de hierro celular, lo que desencadena su internalización y degradación**. La consiguiente disminución de la ferroportina produce un "bloqueo de la mucosa" al disminuir la absorción de hierro en el intestino y deprime el reciclaje del hierro liberado por el recambio de glóbulos rojos (véase **figura 52-8**). En conjunto, esto resulta en una reducción en los niveles circulantes de hierro (hipoferremia), así como la reducida transferencia de hierro placentario durante el embarazo. Cuando los niveles plasmáticos de hierro son altos, aumenta la síntesis hepática de hepcidina, lo que reduce la absorción y el reciclado del hierro.

La expresión de hepcidina está influenciada por el hierro, la eritropoyesis, la inflamación y la hipoxia

Las células hepáticas controlan los niveles de hierro usando un "complejo sensible al hierro" multicomponente compuesto por dos receptores transmembrana cuyos núcleos consisten en homodímeros de **TfR1** y **TfR2**, respectivamente, unidos por una tercera proteína transmembrana, **proteína HFE** (consúltese **figura 52-9**). La proteína HFE es una molécula similar a la clase 1 de histocompatibilidad principal (MHC, *major histocompatibility*) que se une a la microglobulina β_2 (un componente de las moléculas de MHC de clase I, no mostrado en la figura 52-9) y, por lo general, a TfR1. La TfR1 también se une a la forma de transferencia de hierro de la transferrina (Tf-Fe). Los sitios de unión para Tf-Fe y HFE se superponen. En consecuencia, cuando el hierro es abundante y los niveles de Tf-Fe son altos, la HFE se desplaza de TfR1. La proteína HFE desplazada luego se une a TfR2 y forma un complejo que puede estabilizarse aún más mediante la unión de Tf-Fe. La unión de HFE a TfR2 desencadena una cascada de señalización intracelular que activa la expresión de *HAMP*, el gen que codifica hepcidina. El gen que codifica la proteína HFE comúnmente está mutado en la hemocromatosis hereditaria.

Las proteínas morfogenéticas óseas influyen en la expresión de hepcidina

Si bien las **proteínas morfogénicas óseas** (BMP, *bone morphogenic proteins*) actúan por mecanismos distintos a los de la proteína HFE, existe una gran interacción entre estas vías. Las BMP se unen a un receptor de superficie celular (BMPR, *bone morphogenetic protein receptor*) cuya afinidad de unión se ve aumentada por la unión a un correceptor, la **hemojuvelina** (HJV, *hemojuvelin*). La activación del complejo BMPR-HJV desencadena la fosforilación de las proteínas de señalización intracelular llamadas **SMAD**, que estimulan la transcripción del gen que codifica la hepcidina (véase figura 52-9).

Las señales eritropoyéticas regulan los niveles de hepcidina

La síntesis de hepcidina es inducida por citocinas como la **interleucina 6 (IL-6)** que se liberan como parte de una respuesta inflamatoria. La unión de IL-6 a su receptor de superficie celular estimula la expresión génica activando la vía JAK-STAT (transductor de señal de quinasa de Janus y activador de transcripción) (obsérvese figura 52-9). Se cree que las citocinas asociadas a la inflamación desencadenan el aumento en los niveles de hepcidina que acompañan a la **enfermedad crónica de anemia (AI, *anemia of inflammation*)**. La AI se manifiesta como una anemia microcítica e hipocrómica que es refractaria a la suplementación con hierro.

La expresión de hepcidina disminuye durante la hipoxia o β-talasemia. La primera está mediada por la eritropoyetina, cuya síntesis se controla por factores de transcripción inducibles por hipoxia 1 y 2 (HIF-1 y HIF-2). En la β-talasemia, la expresión de hepcidina se inhibe por el **factor de diferenciación del crecimiento 15** (**GDF15, *growth differentiation factor 15***) y la **gastrulación retorcida 1** (**TWSG1, *twisted gastrulation 1***), que son secretados por los eritroblastos.

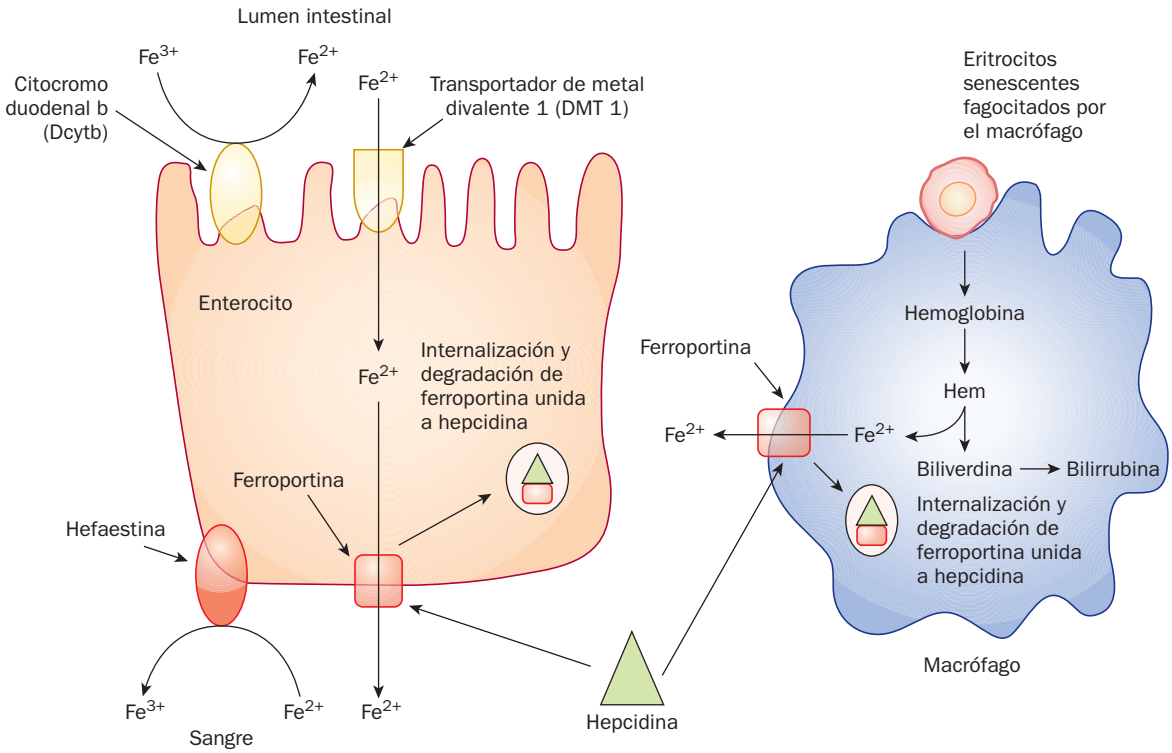


FIGURA 52-8 Papel de la hepcidina en la regulación sistémica del hierro. La hepcidina se une y desencadena la internalización y degradación de la ferroportina expresada en la superficie de los enterocitos y macrófagos. Esto disminuye la absorción de hierro del intestino e inhibe la liberación de hierro de los macrófagos, lo que lleva a la hipoferremia. (Based on Andrews NC: Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008;112(2):219).

LA DEFICIENCIA DE HIERRO Y LA ANEMIA SON COMUNES EN TODO EL MUNDO

La deficiencia de hierro es extremadamente común en muchas partes del mundo, especialmente en los países en desarrollo. Las causas principales de la insuficiencia de hierro incluyen la carencia de la dieta, la malabsorción, el sangrado gastrointestinal y la pérdida de sangre episódica, como la menstruación. La deficiencia de hierro persistente conducirá al agotamiento progresivo de sus reservas corporales. Si el nivel de saturación de transferrina cae a 20% o menos, se alterará la síntesis de hemoglobina, lo que da como resultado una **eritropoyesis deficiente en hierro**. Los niveles de hemoglobina en la sangre disminuirán gradualmente, lo que ocasionará anemia por deficiencia de hierro. Los pacientes suelen presentar una **lámina sanguínea microcítica**, **hipocrómica** que se acompaña de fatiga, palidez y una menor capacidad de ejercicio.

Los eritrocitos de individuos que padecen **anemia por déficit de hierro** muestran niveles aumentados de receptor de transferrina de superficie 1 y déficits en la incorporación catalizada por ferroquelatasa de hierro en la protoporfirina IX. El aumento resultante en los niveles de **proteína del receptor soluble de transferrina** (**sTfR,** ***soluble transferrin receptor protein***) liberada en el plasma por proteólisis parcial de receptores de transferrina de superficie celular y la acumulación de **protoporfirina de glóbulos rojos** sirve como biomarcador diagnóstico para la anemia por deficiencia de hierro. La estimación del nivel de sTfR sérica es especialmente útil para distinguir la anemia debido a la inflamación crónica, que no afecta el nivel de receptores de transferrina eritrocítica, de la anemia por deficiencia de hierro. El **cuadro 52-5** resume los niveles de estos y otros biomarcadores clínicamente utilizados que suelen observarse a medida que los pacientes progresan a través de cada etapa de la anemia por deficiencia de hierro.

La hemocromatosis hereditaria se caracteriza por sobrecarga de hierro

La presencia de hierro que se puede teñir en los tejidos, la **hemosiderosis**, es característica de individuos que padecen **hemocromatosis** o sobrecarga de hierro. La hiperabsorción hereditaria del hierro por los intestinos puede ser causada por mutaciones en el gen *HFE* o, con menos frecuencia, los genes que codifican hepcidina, TfR2, HJV o ferroportina (consúltese **cuadro 52-6**). La **sobrecarga de hierro secundaria** generalmente se asocia con una eritropoyesis ineficaz, como se ve en los síndromes de talasemia. Las transfusiones de sangre repetidas también pueden dar como resultado una sobrecarga de hierro progresiva, acumulación de hierro en los tejidos y la generación de especies tóxicas de oxígeno reactivo.

LOS INHIBIDORES DE SUERO IMPIDEN LA PROTEÓLISIS INDISCRIMINADA

Las proteasas son participantes esenciales en la remodelación tisular, la coagulación de la sangre, la eliminación de células viejas o

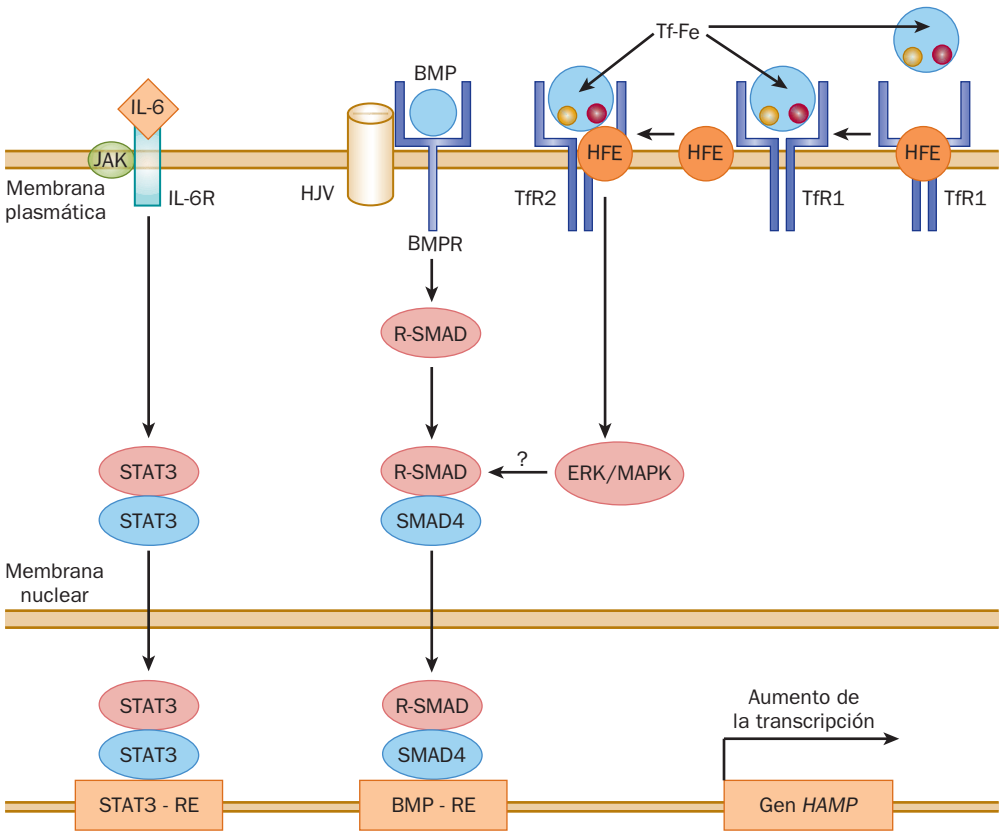


FIGURA 52-9 Regulación de la expresión génica de hepcidina. Tf-Fe (holotransferrina) compite con HFE por la unión a TFR1. Los altos niveles de Tf-Fe desplazan a HFE de su sitio de unión en TfR1. La HFE desplazada se une a TfR2 junto con Tf-Fe para señalizar vía ERK/MAPK para inducir la expresión de hepcidina. La BMP se une a su receptor BMPR y HJV (correceptor) para activar R-SMAD. La R-SMAD se dimeriza con SMAD4, luego se transloca al núcleo donde se une al BMP-RE, lo que da como resultado la activación transcripcional de hepcidina como se muestra. IL-6, que es un biomarcador de inflamación, se une a su receptor de superficie celular y activa la vía JAK-STAT. STAT3 se transloca al núcleo donde se une a su elemento de respuesta (STAT-RE) en el gen de la hepcidina para inducirlo. BMP: proteína morfogenética ósea; BMPR: receptor de proteína morfogenética ósea; BMP-RE (*BMP response element*): elemento de respuesta BMP; ERK-MAPK (*extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase*): proteína quinasa activada por quinasa/mitógeno regulada por señal extracelular; *HAMP*: gen que codifica el péptido antimicrobiano de hepcidina (hepcidina); HJV: hemojuvelina; IL-6: interleucina 6; IL-6R (*interleukin 6 receptor*): receptor de interleucina 6; JAK (*Janus-associated kinase*): quinasa asociada a Janus; SMAD (Sma and MAD [mothers against decapentaplegic]-related protein): Proteínas relacionadas con SMAD, Sma y MAD (madres contra decapentaplégica); STAT (*signal transduction and activator of transcription*): transducción de señal y activador de la transcripción; STAT3-RE (*STAT 3 response element*): elemento de respuesta STAT 3; TfR1: receptor de transferrina 1; TfR2: receptor de transferrina 2. (Tomado de: Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B, *et al*. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell* 2010;142:24).

CUADRO 52-5 Cambios en varias pruebas de laboratorio usadas para evaluar la anemia por deficiencia de hierro

Parámetro	Normal	Balance negativo de hierro	Eritropoyesis deficiente en hierro	Anemia por insuficiencia de hierro
Ferritina sérica (µg/dL)	50-200	Disminuido <20	Disminuido <15	Disminuido <15
Capacidad de fijación total de hierro (TIBC) (µg/dL)	300-360	Discretamente incrementado >360	Incrementado >380	Incrementado >400
Hierro sérico (µg/dL)	50-150	Normal	Disminuido <50	Disminuido <30
Saturación de transferrina (%)	30-50	Normal	Disminuido <20	Disminuido <10
Protoporfirina RBC (µg/L)	30-50	Normal	Incrementado	Incrementado
Receptor de transferrina soluble (µg/L)	4-9	Incrementado	Incrementado	Incrementado
Morfología de glóbulos rojos	Normal	Normal	Normal	Hipocrómico microcítico

Modificado de la figura 98-2, página 630, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17a. ed. Fauci AS, *et al* (eds.). McGraw-Hill; 2008.

CUADRO 52-6 Condiciones de sobrecarga de hierro

Hemocromatosis hereditaria
- Hemocromatosis relacionada con HFE (tipo 1)
- Hemocromatosis no relacionada con HFE
  - Hemocromatosis juvenil H_o (tipo 2)
    - Mutación de hepcidina (tipo 2A)
    - Mutación de hemojuvelina (tipo 2B)
  - Mutación del receptor 2 de H_o transferrina (tipo 3)
  - Mutación H_o ferroportina (tipo 4)

Hemocromatosis secundaria
- Anemia caracterizada por eritropoyesis ineficaz (p. ej., talasemia mayor)
- Transfusiones de sangre repetidas
- Terapia de hierro parenteral
- Sobrecarga de hierro en la dieta (siderosis bantú)

Condiciones diversas asociadas con la sobrecarga de hierro
- Hepatopatía alcohólica
- Esteatohepatitis no alcohólica
- Infección por hepatitis C

enfermas, la destrucción de patógenos invasores y otras funciones fisiológicas. No obstante, si no se controlan, las enzimas proteolíticas que se secretan o escapan a la sangre pueden dañar el tejido sano. La protección contra la proteólisis indiscriminada implica una batería de proteínas séricas que inhiben y, por tanto, limitan el alcance de la acción de la proteasa

La deficiencia de α_1-antiproteinasa se asocia con enfisema y enfermedad del hígado

La **α_1-antiproteinasa**, una glucoproteína de 394 residuos que conforma >90% de la fracción de α_1-albúmina, es el principal **inhibidor de serina proteasa** (**serpina**) en el plasma humano. Antiguamente llamada α_1-antitripsina, la α_1-antiproteinasa inhibe tripsina, elastasa y otras serina proteasas al formar un complejo covalente inactivo con ellas. La α_1-antiproteinasa es sintetizada por hepatocitos y macrófagos. Existen al menos 75 **formas polimórficas** de esta serpina, o Pi. El genotipo principal es MM, cuyo producto fenotípico es PiM. Una deficiencia de α_1-antiproteinasa juega un papel en algunos casos (~5%) de enfisema, sobre todo en sujetos con el **genotipo ZZ** (que sintetizan PiZ) y en los heterocigotos PiSZ, los cuales secretan niveles más bajos de serpinas que los individuos PiMM.

La oxidación de Met_{358} inactiva la α_1-antiproteinasa

En los pulmones, los componentes del humo producido al quemar productos de tabaco y las actividades industriales pueden oxidar un residuo clave de **metionina**, Met_{358}, localizado en el dominio de unión a proteasa de la α_1-antiproteinasa. La oxidación hace que la α_1-antiproteinasa no sea capaz de unirse covalentemente y neutralizar las serina proteasas. El daño posterior producido por la actividad proteolítica no controlada en los pulmones puede contribuir al desarrollo de enfisema. Fumar puede ser particularmente devastador para los pacientes que ya tienen bajos niveles de α_1-antiproteinasa (p. ej., fenotipo PiZZ). La administración intravenosa de serpinas (terapia de aumento) se ha utilizado como un complemento en el tratamiento de pacientes con enfisema que presentan deficiencia de α_1-antiproteinasa.

Los individuos deficientes de α_1-antiproteinasa también tienen un mayor riesgo de daño pulmonar por neumonía u otras afecciones que inducen a la acumulación de glóbulos blancos polimorfonucleares en el pulmón. La deficiencia de α_1-antiproteinasa también está implicada en la **enfermedad hepática por deficiencia de α_1-antitripsina**, una forma de cirrosis que afecta a las personas que poseen el fenotipo ZZ. En estos individuos, la sustitución de Glu_{342} por **lisina** promueve la formación de agregados poliméricos de α_1-antiproteinasa en las cisternas del retículo endoplásmico en las células hepáticas.

La α_2-magroglobulina neutraliza proteasas y citosinas blanco en los tejidos

La **α_2-macroglobulina**, un miembro de la familia de proteínas plasmáticas tioéster, comprende de 8 a 10% de la proteína plasmática total en humanos. Esta glucoproteína homotetramérica es el miembro más abundante de un grupo de proteínas plasmáticas homólogas que incluyen las proteínas del complemento C3 y C4. Monocitos, hepatocitos y astrocitos sintetizan la α_2-macroglobulina. Media la inhibición y el aclaramiento de un amplio espectro de proteasas ausentes mediante un mecanismo de "Venus atrapamoscas". Los componentes claves de la trampa incluyen un "dominio de cebo" de 35 residuos ubicado cerca del centro de su secuencia polipeptídica y un tioéster cíclico interno que une una cisteína y un resto de glutamina (véase **figura 52-10**). La escisión del dominio del cebo produce un cambio conformacional masivo y desencadena el envolvimiento de la proteasa atacante. El tioéster reactivo luego reacciona con la proteasa para unir covalentemente las dos proteínas. Este cambio conformacional también expone una secuencia en α_2-macroglobulina que es reconocida por los receptores de la superficie celular que posteriormente se unen y eliminan el complejo del plasma.

Además de servir como inhibidor del espectro amplio predominante del plasma o **panproteinasa**, la α_2-macroglobulina también se une y transporta aproximadamente 10% del plasma de zinc (el resto es transportado por la albúmina) así como la citocina como factor de crecimiento derivado de plaquetas y factor de crecimiento transformante β. Como transportador de **citocina**, la α_2-macroglobulina parece estar implicada en la dirección de estos efectores hacia tejidos o células particulares. Una vez absorbidas por las células, las citocinas se disocian, liberándolas para modular su crecimiento y función.

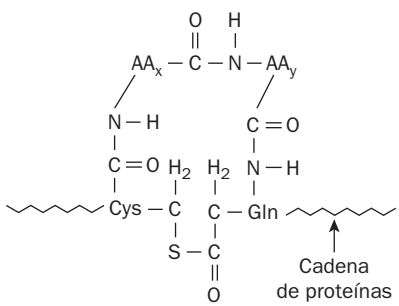


FIGURA 52-10 Enlace cíclico de tioléster interno, como está presente en α_2-macroglobulina. AA_x y AA_y son aminoácidos vecinos a la cisteína y la glutamina.

CUADRO 52-7 Una clasificación de amiloidosis

Tipo	Proteína implicada
Primaria	Principales cadenas ligeras de inmunoglobulinas
Secundaria	Suero amiloide A (SAA)
Familiar	Transtirretina; también raramente apolipoproteína A-1, cistaína C, fibrinógeno, gelsolina, lisozima
Enfermedad de Alzheimer	Péptido β amiloide (véase capítulo 57, caso nro. 2)
Asociado a la diálisis	β_2-microglobulin

Nota: También se han relacionado con la amiloidosis otras proteínas además de las mencionadas.

LA DEPOSICIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS EN LOS TEJIDOS CONDUCE A AMILOIDOSIS

La **amiloidosis** se refiere a un deterioro de la función tisular que resulta de la acumulación de agregados insolubles de proteínas en los espacios intersticiales entre las células. El término es incorrecto, ya que originalmente se pensó que las fibrillas eran de tipo almidón en la naturaleza. Las fibrillas generalmente están compuestas por fragmentos proteolíticos de proteínas plasmáticas cuya conformación es rica en **lámina beta plisada**. Por lo general, también contienen un **componente P** derivado de una proteína plasmática estrechamente relacionada con la proteína C reactiva denominada **componente amiloide P sérico**.

En varios tipos de amiloidosis están implicadas anomalías estructurales o sobreproducción de más de 20 proteínas diferentes. La amiloidosis **primaria** (consúltese **cuadro 52-7**) generalmente es causada por un trastorno de células plasmáticas monoclonales que conduce a la acumulación de fragmentos de proteínas derivadas de las **cadenas ligeras** de inmunoglobulina (véase a continuación). La amiloidosis **secundaria** es el resultado de una acumulación de fragmentos de **amiloide A sérico** (**SAA,** ***serum amyloid A***) como consecuencia de infecciones crónicas o cáncer. En estos casos, los niveles elevados de citocinas inflamatorias estimulan el hígado para sintetizar SAA, lo que conduce a un aumento concomitante en sus productos de degradación proteolítica. La **amiloidosis familiar** es el resultado de la acumulación de formas mutantes de ciertas proteínas plasmáticas, como la **transtirretina** (véase cuadro 52-3). Se han identificado más de 80 formas mutacionalmente alteradas de esta proteína. Los pacientes que se someten a diálisis regulares a largo plazo corren el riesgo de la **β_2-microglobulina**, una proteína plasmática que se retiene en las membranas de diálisis.

LAS INMUNOGLOBULINAS PLASMÁTICAS DEFIENDEN CONTRA LOS INVASORES

Los tres componentes principales del sistema inmune del cuerpo son los **linfocitos B** (**células B**), **los linfocitos T** (**células T**) y el **sistema inmune innato**. Los linfocitos B se derivan principalmente de las células de la médula ósea, mientras que los linfocitos T se originan en el timo. Las células B son responsables de la síntesis de anticuerpos humorales circulantes, también conocidos como **inmunoglobulinas**. Las **células T** están involucradas en una variedad de **procesos inmunológicos mediados por células** importantes, como el rechazo de injertos, reacciones de hipersensibilidad y defensa contra células malignas y muchos virus. Las células B y T responden de una manera **adaptativa**, desarrollando una respuesta específica para cada invasor encontrado. El **sistema inmune innato** defiende contra la infección de una manera inespecífica. Contiene una variedad de células como fagocitos, neutrófilos, células asesinas naturales y otras que se analizarán en el capítulo 54.

Las inmunoglobulinas se componen de múltiples cadenas polipeptídicas

Las inmunoglobulinas son glucoproteínas oligoméricas cuyas subunidades individuales se han clasificado tradicionalmente como pesadas (H) o ligeras (L) en función de su migración durante la electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS. Las inmunoglobulinas humanas se pueden agrupar en cinco clases abreviadas como IgA, IgD, IgE, IgG e IgM (véase **cuadro 52-8**). Sus respectivas funciones biológicas se resumen en el **cuadro 52-9**. La más abundante de las cinco, la IgG, consiste en dos cadenas ligeras idénticas (23 kDa) y dos cadenas pesadas idénticas (53-75 kDa) unidas por una red de enlaces disulfuro.

El tipo de cadena H determina la clase de inmunoglobulina y, por tanto, su función efectora (véase a continuación): α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG) y μ (IgM). Las cadenas γ de IgG están organizadas en cuatro dominios conservados: una región variable amino terminal (V_H) y tres **regiones constantes** (**C_H1, C_H2, C_H3**). Los cinco tipos de cadenas H se distinguen por diferencias en sus **regiones C_H**. Las cadenas μ y ε tienen cada una cuatro dominios C_H en lugar de los tres habituales. La configuración en forma de Y de la unidad central de inmunoglobulina se ilustra mediante el heterotetrámero IgG (L_2H_2) que se muestra en la **figura 52-11**. Algunas inmunoglobulinas como IgG existen sólo como el tetrámero básico. Otros, como IgA e IgM, pueden formar oligómeros superiores compuestos de dos, tres (IgA) o cinco copias (IgM) de la unidad tetrámera central (consúltese **figura 52-12**).

La cadena ligera de IgG se puede dividir en una **región constante** C-terminal (C_L) y una **región variable** amino terminal (V_L). Hay dos tipos generales de cadenas ligeras, **kappa** (κ) y **lambda** (λ), que se pueden identificar por sus distintas regiones C_L. En inmunoglobulinas humanas, las cadenas κ son más comunes que las cadenas λ. Una molécula de inmunoglobulina dada siempre contiene dos cadenas ligeras κ o dos λ, –nunca una mezcla de una κ y una λ–.

Las moléculas IgG son **divalentes**. La punta de cada Y contiene un sitio de unión a antígeno formado por dominios V_H y V_L que forman dos láminas antiparalelas de aminoácidos. El sitio en el antígeno al que se une un anticuerpo se denomina **antigénico determinante** o **epítopo**. Debido a que la región entre los dominios C_H1 y C_H2 puede escindirse fácilmente con pepsina o papaína (véase figura 52-11), se denomina región de bisagra. La región de bisagra confiere **flexibilidad** a los brazos Fab, lo que facilita la unión a **epítopos** que pueden estar muy separados o en dos antígenos separados. Al unir las partículas de antígeno, se forman grandes agrupaciones de antígenos de anticuerpos que son fáciles de eliminar para los leucocitos fagocíticos. La formación de conglomerados a menudo se demuestra en el laboratorio mediante la formación de **rosetas** de eritrocitos.

CUADRO 52-8 Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Propiedad	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Porcentaje de inmunoglobulina total en suero (aproximado)	75	15	9	0.2	0.004
Concentración sérica (mg/dL) (aproximada)	1 000	200	120	3	0.05
Coeficiente de sedimentación	7S	7S u 11S[a]	19S	7S	8S
Peso molecular (x 1 000)	150	170 o 400[a]	900	180	190
Estructura	Monómero	Monómero o dímero	Monómero o pentámero	Monómero	Monómero
Símbolo de la cadena H	γ	α	μ	δ	ε
Fijación del complemento	+	—	+	—	—
Pasaje trasplacentario	+	—	—	?	—
Mediación de respuestas alérgicas	—	—	—	—	+
Encontrado en secreciones	—	+	—	—	—
Opsonización	+	—	—[b]	—	—
Receptor de antígeno en la célula B	—	—	+	?	—
La forma polimérica contiene la cadena J	—	+	+	—	—

[a]La forma 11S se encuentra en las secreciones (p. ej., saliva, leche y lágrimas) y en los fluidos de los tractos respiratorio, intestinal y genital.
[b]La IgM opsoniza indirectamente por activación del complemento. Esto produce C3b, que es una opsonina.
Fuente: Reproducido con permiso de Levinson W, Jawetz E. *Medical Microbiology and Immunology*, 7a. ed. McGraw-Hill; 2002.

Las regiones variables confieren especificidad de unión

Las **regiones variables** de las cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulina forman los **sitios de unión a antígeno** que confieren anticuerpos con su sorprendente especificidad. Dentro de las regiones variables de las cadenas L y H hay un puñado de **regiones hipervariables**, islas cortas (5-10 residuos) intercaladas dentro del **marco** relativamente invariable o **regiones determinantes de la complementariedad** (**CDR,** ***complementarity-determining regions***) (véase **figura 52-13**). Se forma un sitio de unión al antígeno cuando las **regiones hipervariables** de una cadena H y L se unen para formar un asa de proyección desde la superficie del anticuerpo. Como su nombre lo indica, no hay dos regiones variables en las inmunoglobulinas de diferentes individuos que compartan la misma secuencia de aminoácidos.

La capacidad de generar diversas combinaciones de CDR de cadena H y L proporciona un mecanismo para producir **diversidad combinatoria**, una colección de anticuerpos que poseen diferentes especificidades. La esencia de las interacciones antígeno-anticuerpo es la complementariedad mutua entre las superficies de las CDR y los epítopos que implican interacciones múltiples no covalentes, tales como enlaces de hidrógeno, puentes salinos, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals (véase capítulo 2).

Las regiones constantes determinan las funciones efectoras específicas de clase

Las **regiones constantes** de las moléculas de inmunoglobulina, particularmente C_H2 y C_H3 (y C_H4 de IgM e IgE) en el fragmento Fc, son responsables de las funciones efectoras específicas de clase de las diferentes moléculas de inmunoglobulina (véase cuadro 52-9,

CUADRO 52-9 Principales funciones de las immunoglobulinas

Immunoglobulina	Función principal
IgG	Anticuerpo principal en la respuesta secundaria. Opsoniza bacterias, lo que facilita su fagocitosis. Fija el complemento, lo que mejora la muerte bacteriana. Neutraliza toxinas bacterianas y virus. Cruza la placenta.
IgA	La IgA secretoria evita la unión de bacterias y virus a las membranas mucosas. No fija el complemento.
IgM	Producida en la respuesta primaria a un antígeno. Fijan el complemento. No cruza la placenta. Receptor de antígeno en la superficie de las células B.
IgD	Se encuentra en las superficies de las células B, donde actúa como receptor del antígeno.
IgE	Media la hipersensibilidad inmediata al causar la liberación de mediadores de los mastocitos y los basófilos al exponerse al antígeno (alérgeno). Defiende contra las infecciones de lombrices al causar la liberación de enzimas de los eosinófilos. No fija el complemento. Principal defensa del hospedero contra las infecciones helmínticas.

Fuente: Reproducido con permiso de Levinson W, Jawetz E. *Medical Microbiology and Immunology*, 7a. ed. McGraw-Hill; 2002.

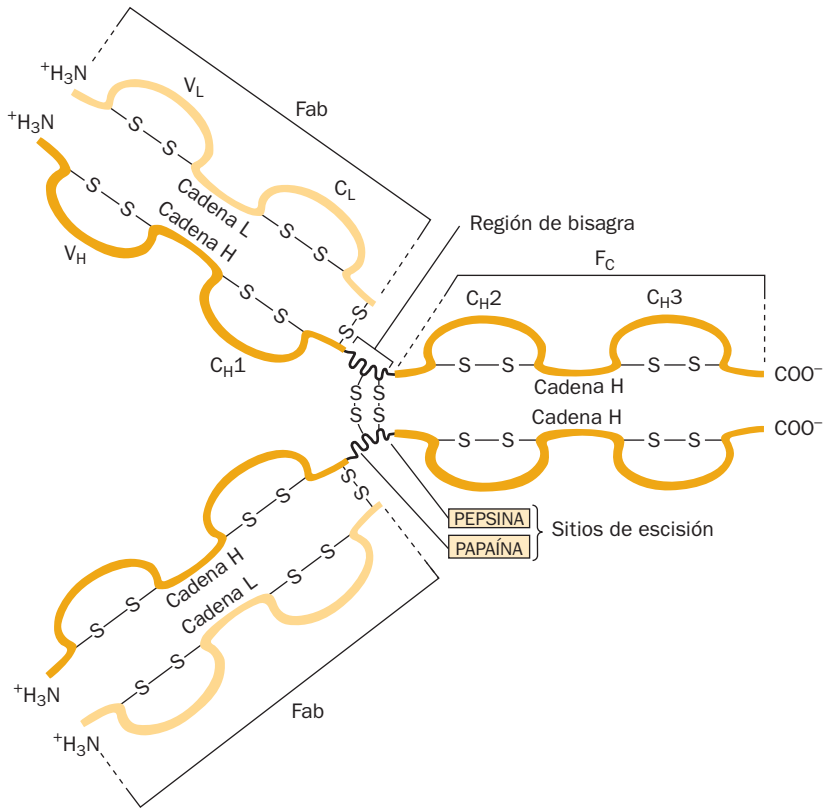


FIGURA 52-11 Estructura de la IgG. La molécula consiste en dos cadenas ligeras (L) y dos cadenas pesadas (H). Cada cadena ligera consta de una región variable (V_L) y una constante (C_L). Cada cadena pesada consta de una región variable (V_H) y una región constante que se divide en tres dominios (C_H1, C_H2 y C_H3). El dominio C_H2 contiene el sitio de unión al complemento y el dominio C_H3 contiene un sitio que se une a receptores en neutrófilos y macrófagos. El sitio de unión al antígeno está formado por las regiones hipervariables de las cadenas ligera y pesada, que están ubicadas en las regiones variables de estas cadenas (véase figura 52-13). Las cadenas ligeras y pesadas están unidas por enlaces disulfuro, y las cadenas pesadas también están unidas entre sí por enlaces disulfuro. (Reproducido con permiso de Parslow TG, *et al* (eds.). Medical Immunology, 10a. ed. McGraw-Hill; 2001).

parte inferior), tales como fijación del complemento o paso transplacentario.

La diversidad de anticuerpos depende de reordenamientos génicos

El genoma humano contiene menos de 150 genes de inmunoglobulina. Sin embargo, cada persona es capaz de sintetizar quizás un millón de anticuerpos diferentes, cada uno específico para un antígeno único. Claramente, la expresión de inmunoglobulina no sigue el paradigma "un gen, una proteína". En cambio, la diversidad de inmunoglobulinas se genera mediante **mecanismos combinatorios** basados en la mezcla y la reorganización de un conjunto finito de información genética de múltiples maneras (véanse capítulos 35 y 38).

La diversidad de anticuerpos surge, en parte, de la distribución de la secuencia de codificación para cada cadena de inmunoglobulina entre múltiples genes. Cada cadena ligera es el producto de tres o más genes estructurales separados que codifican la **región variable** (V_L), la **región de unión** (J) (que no tiene relación con la cadena J de IgA o IgM) y la **región constante** (C_L). De forma similar, cada cadena pesada es el producto de al menos **cuatro** genes diferentes que codifican una **región variable** (V_H), una **región de diversidad** (D), una **región de unión** (J) y una **región constante** (C_H). Cada gen está presente en el genoma humano en varias versiones que se pueden ensamblar en una multiplicidad de combinaciones.

La diversidad aumenta aún más mediante la acción de la **citidina desaminasa inducida por la activación** (AID, *activation-induced cytidine deaminase*). Al catalizar la conversión de citidina en uracilo, la AID aumenta masivamente la frecuencia de mutación de los genes de la inmunoglobulina V. Las mutaciones generadas por AID son de naturaleza **somática**, exclusivas de la célula diferenciada donde ocurrieron en lugar de las células de la línea germinal. En consecuencia, la activación de AID puede generar subpoblaciones únicas de células B que albergan mutaciones distintas de sus genes V, lo que provoca que cada una sintetice inmunoglobulinas de especificidad de antígeno diferente. En algunos estados patológicos, la acción mutagénica de AID puede conducir a la generación de **autoanticuerpos** que se dirigen a los componentes endógenos del cuerpo, un fenómeno denominado **autoinmunidad**.

Un tercer mecanismo para sintetizar anticuerpos que se dirigen a nuevos antígenos es la **diversidad de uniones**. Esto se refiere a la adición o eliminación de números aleatorios de nucleótidos que tienen lugar cuando ciertos segmentos de genes se unen. Como es el caso con AID, las mutaciones generadas por la diversidad de unión son de naturaleza somática.

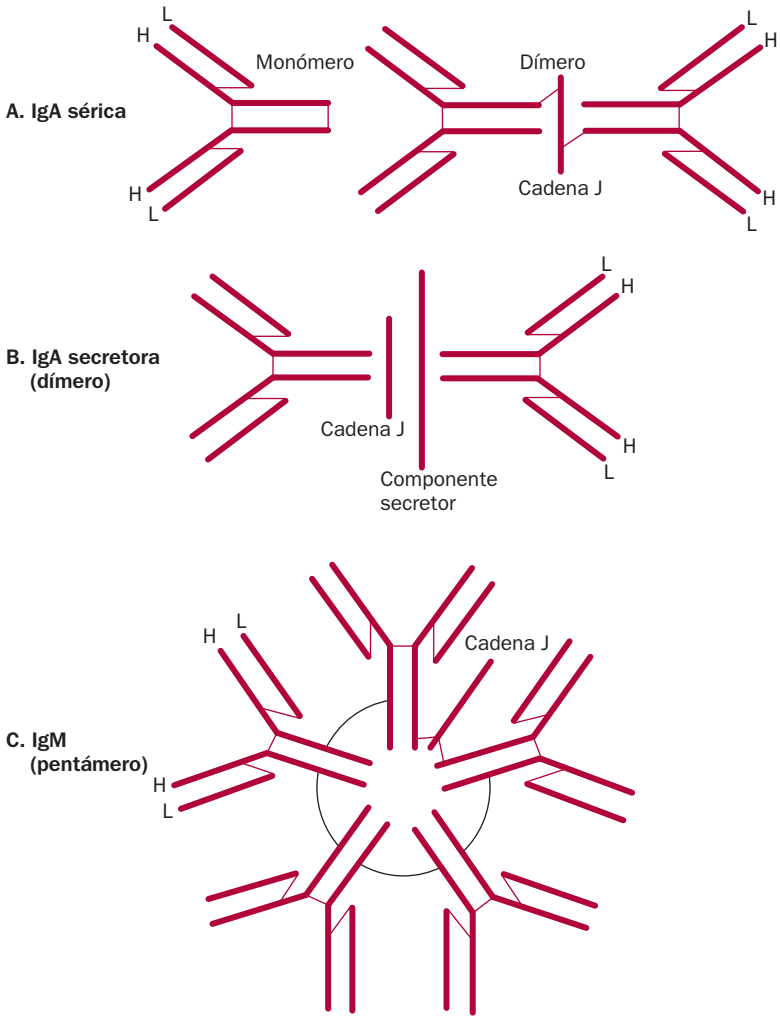


FIGURA 52-12 Representación esquemática de IgA sérica, IgA secretora e IgM. Tanto IgA como IgM tienen una cadena J, pero sólo la IgA secretora tiene un componente secretor. Las cadenas polipeptídicas están representadas por líneas gruesas; los enlaces disulfuro que unen diferentes cadenas polipeptídicas están representados por líneas finas. (Reproducido con permiso de Parslow TG, *et al* (eds.). Medical Immunology, 10a. ed. McGraw-Hill; 2001).

La conmutación de clase (isotipo) se produce durante las respuestas inmunes

En la mayoría de las respuestas inmunes humorales, se generan anticuerpos de diferentes clases que se dirigen al mismo epítopo. Cada clase aparece en un orden cronológico específico después de la exposición a un inmunógeno (antígeno inmunizante). Por ejemplo, los anticuerpos de la clase IgM preceden normalmente a la aparición de la clase IgG. La transición de la síntesis de una **clase** a otra se denomina conmutación de **de clase** o **isotípica**. El cambio implica la combinación de una cadena ligera de inmunoglobulina dada con diferentes cadenas pesadas. Mientras que una cadena ligera recién sintetizada inicialmente se combinará con una cadena μ para generar una molécula de IgM específica, con el tiempo la misma cadena ligera específica de antígeno se combinará con una cadena γ para generar una IgG cuya región V_H y, en consecuencia, la especificidad del antígeno será idéntica a la de la cadena μ de la molécula de IgM precedente. La combinación de esta cadena ligera con una cadena pesada α, a su vez, forma una molécula de IgA con idéntica especificidad de antígeno. Se dice que las moléculas de inmunoglobulina de diferentes clases que poseen idénticos dominios hipervariables y variables, y la especificidad del antígeno comparten un **idiotipo** común.

Los anticuerpos monoclonales son una importante herramienta de investigación

Los anticuerpos se han convertido en una herramienta importante en la investigación biomédica, el diagnóstico y tratamiento. Originalmente, la producción de anticuerpos contra un antígeno seleccionado requería que el antígeno se inyectara en un animal hospedero, como un conejo o cabra, y el suero contenía inmunoglobulinas plasmáticas que incluían (con suerte) anticuerpos contra el antígeno de interés obtenido. Cuando se inyecta un antígeno en un animal, se induce una mezcla de células B para sintetizar anticuerpos dirigidos contra epítopos en el antígeno. Los anticuerpos producidos son, por tanto, heterogéneos o de naturaleza **policlonal**. Además, a menos que se someta a una costosa purificación por afinidad, el suero contendrá todos los anticuerpos producidos por el animal hospedero además de aquellos contra el antígeno de interés.

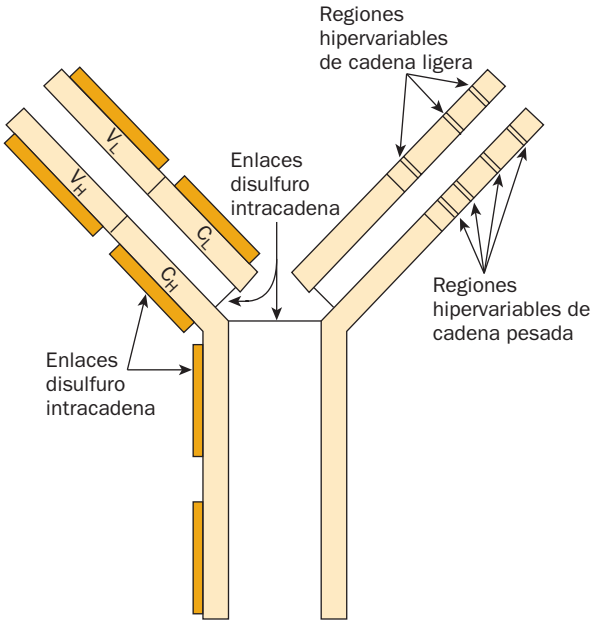


FIGURA 52-13 Modelo esquemático de una molécula de IgG que muestra las posiciones aproximadas de las regiones hipervariables en las cadenas pesada y ligera. El sitio de unión al antígeno está formado por estas regiones hipervariables. Las regiones hipervariables también se denominan regiones determinantes de la complementariedad (CDR). (Modificado y reproducido con permiso de Parslow TG, *et al* (eds.). Medical Immunology, 10a. ed. McGraw-Hill; 2001).

Los anticuerpos **monoclonales** homogéneos que se dirigen, no sólo a un único antígeno, sino a un único epítopo en su superficie pueden generarse aislando las células B del bazo de un ratón (u otro animal adecuado) que se haya inyectado previamente con antígeno. Las células B cultivadas se fusionan con **células de mieloma** de ratón para generar una línea celular de **hibridoma** inmortalizada que secreta un solo anticuerpo monoclonal. Estos anticuerpos se criban luego para identificar líneas de hibridoma que secretan un anticuerpo monoclonal específico para el antígeno o incluso el epítopo de elección.

Para aplicaciones terapéuticas, los anticuerpos monoclonales producidos por líneas celulares murinas pueden **humanizarse**. Esto se logra uniendo las CDR (los sitios que unen antígenos) en sitios apropiados en una molécula de inmunoglobulina humana. Ello produce un anticuerpo que es muy similar a un anticuerpo humano, con lo que se reduce marcadamente su **inmunogenicidad** y disminuyen las posibilidades de una reacción anafiláctica.

EL SISTEMA DEL COMPLEMENTO TAMBIÉN PROTEGE CONTRA LA INFECCIÓN

Las inmunoglobulinas forman el núcleo del **sistema inmune adaptativo** del cuerpo, un nombre que refleja su capacidad para generar anticuerpos contra nuevos agentes infecciosos. El **sistema inmune innato** deriva sus nombres del hecho de que el número, la función y la especificidad de sus componentes son fijos y permanecen constantes durante toda la vida. El brazo de plasma del sistema inmune innato se llama el **sistema del complemento**, que puede ser activado por complejos anticuerpo-antígeno y, por ello, actúa en consecuencia y en apoyo de, o como complemento, del sistema inmune adaptativo.

El sistema del complemento muestra características que recuerdan la cascada de coagulación de la sangre. Ambos consisten en conjuntos de zimógenos circulantes (proproteínas) que permanecen latentes catalíticamente hasta que se activan por escisión proteolítica. Estas proteínas, llamadas **factores del complemento**, se sintetizan por una variedad de tipos celulares, que incluyen hepatocitos, macrófagos, monocitos y células endoteliales intestinales. Como en el caso de los factores de coagulación, la mayoría de los factores del complemento son proproteasas (véase capítulo 9) que, al activarse, se dirigen a otros componentes del sistema y generan una serie o **cascada** de eventos de activación proteolítica que amplifican la fabricación de los productos finales protectores del sistema.

La **vía clásica** para activar el sistema complejo se desencadena cuando un complejo anticuerpo-antígeno se une y estimula la actividad proteasa del factor **C1**. A continuación, C1 escinde el factor C2 del complemento para formar dos proteínas más pequeñas, C2a y C2b, y escinde el factor C4 del complemento para formar C4a y C4b (véase **figura 52-14**). Dos de los fragmentos proteolíticos, C2a y C4b se asocian para formar una nueva proteasa, la convertasa C3, que escinde el factor C3 del complemento en C3a y C3b. C3a ahora se une con el heterodímero C2a:C4b para formar un complejo heterotrimérico, la convertasa C5, que escinde el factor C5 del complemento en C5a y C5b. La proteína C5b luego se combina con los factores del complemento C6, C7, C8 y C9 para formar el **complejo de ataque a la membrana** (MAC, *membrane attack complex*). El MAC mata a los invasores bacterianos al unirse y abrir un poro en su membrana plasmática. Seguido a la lisis, los restos bacterianos son destruidos por macrófagos fagocíticos. Mientras tanto, las proteínas C3a y C5a sirven como quimioatrayentes que reclutan leucocitos en el sitio de infección y estimulan una respuesta inflamatoria.

El objetivo del MAC para las bacterias invasoras se ve facilitado por la presencia de enlaces tioéster en C3 y C4. Al igual que el enlace tioéster en el inhibidor de la proteasa plasmática α_2-macroglobulina, este enlace altamente reactivo queda expuesto como resultado del cambio conformacional que acompaña a la activación. En el caso de C3 y C4, el tioéster reacciona con los grupos hidroxilo de los polisacáridos de la superficie de las bacterias, anclando covalentemente el complejo convertasa C5 del cual forma parte el agente patógeno seleccionado. Esto permite que los componentes restantes del MAC se formen cerca de la membrana bacteriana, lo que facilita el ensamblaje.

La activación también puede desencadenarse a través de la **vía de las lectinas**, donde los complejos se forman cuando un complemento conocido como **lectina de unión a manosa** (MBL, *mannose-binding lectin*), también llamada **proteína de unión a mananos** (MBP, *mannan-binding protein*), se une a polisacáridos bacterianos para generar un complejo que recluta y activa C4 (véase figura 52-14). El término lectina se refiere a cualquier proteína que se une a polisacáridos. La mayoría de las **lectinas** son altamente selectivas. La MBL es específica para las fracciones de hidratos de carbono que contienen manosa (**mananos**) de glucoproteínas y **lipopolisacáridos** presentes en la superficie de bacterias Gram positivas, algunos virus y varios hongos. Tras la unión al complejo polisacárido-MBL, C4 se somete a autoproteólisis y se libera C4a y C4b. Además, C_4 escinde C_2 en C2a y C2b. El resto de la cascada refleja la ruta clásica.

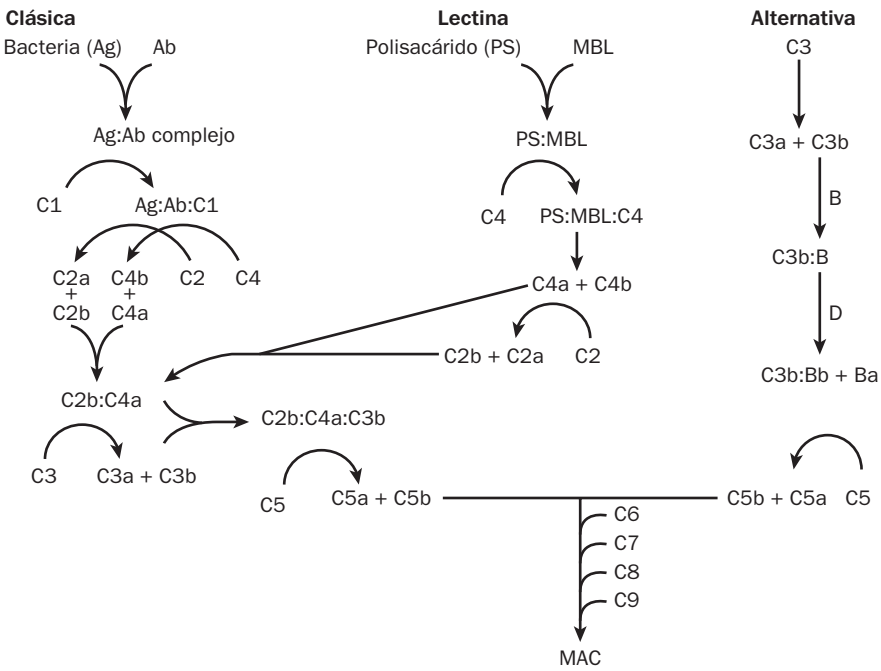


FIGURA 52-14 Cascada del complemento. La activación del sistema del complemento puede ocurrir a través de tres mecanismos diferentes, conocidos como vía clásica, vía de lectina y vía alternativa. Se muestran los principales componentes implicados en cada ruta, los productos formados por la escisión proteolítica de las proteínas inactivas, y los principales complejos formados. Los dos puntos se usan para indicar la asociación en un complejo.

La MBL circula como complejo multivalente grande, de ≈400 a 700 kDa, que consta de cuatro o más copias de una unidad central homotrimérica formada por tres copias de un polipéptido de ≈30 kDa. El núcleo del homotrímero se forma cuando los dominios de tipo colágeno aminoterminal en estos polipéptidos se entrelazan para generar una cola extendida. La cabeza globular de cada polipéptido contiene un dominio de unión a carbohidrato. Una vez formado, cuatro o más homotrímeros se asocian juntos, unidos covalentemente por enlaces disulfuro entre sus regiones de cola aminoterminal, para formar un "tallo" C-terminal de cabezas de carbohidratos que unen proyectos en una disposición ramificada parecida a la de una inmunoglobulina (consúltese **figura 52-15**).

El sistema del complemento también se puede activar mediante la **vía alternativa**, en la que C3 se activa mediante hidrólisis química directa, un proceso que a veces se denomina "tic-tac". En la ruta alternativa, C3b se une al complemento B y se forma un complejo C3b: B que luego es escindido por el complejo factor D. El complejo C3b:Bb resultante posee actividad C5 convertasa.

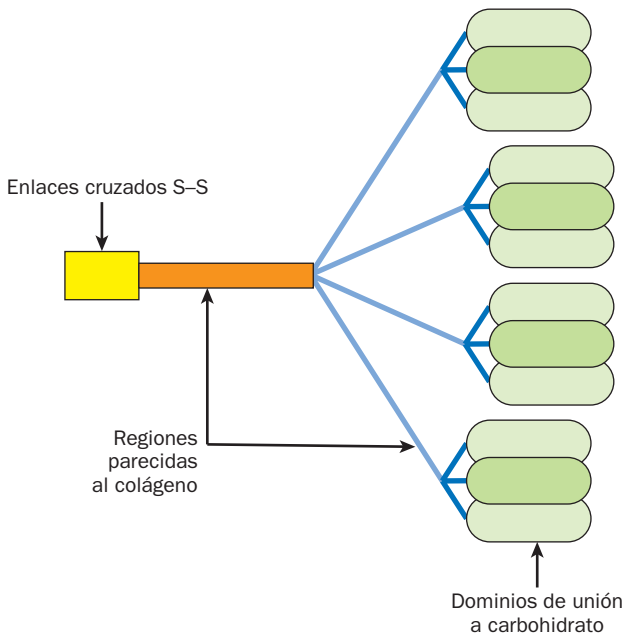


FIGURA 52-15 Representación esquemática de la lectina de unión a manosa (MBL). Se muestra un diagrama esquemático de una MBL que comprende cuatro conjuntos de homotrímeros de MBL. Los dominios de unión a carbohidratos están coloreados. Los dominios de unión similares a colágeno entrelazados para cada trímero se muestran en azul. La región del tallo, donde las porciones aminoterminales de los homotrímeros de los dominios similares al colágeno se asocian, es de color naranja y amarillo, con marcas amarillas en la región donde se encuentran los enlaces cruzados S–S que estabilizan el tetrámero de homotrímeros.

LAS DISFUNCIONES DEL SISTEMA INMUNITARIO CONTRIBUYEN A MUCHAS CONDICIONES PATOLÓGICAS

Las disfunciones del sistema inmune innato y adaptativo pueden tener serias consecuencias fisiológicas. Los déficits en la producción de inmunoglobulinas o factores del complemento pueden dejar al individuo afectado, **inmunodeprimido**, susceptible a la aparición y propagación de infecciones bacterianas, fúngicas o víricas. Muchos factores pueden contribuir a una depresión en la

efectividad del sistema inmune. Estos incluyen anomalías genéticas (p. ejemplo, la agammaglobulinemia, en la que la producción de IgG se ve marcadamente afectada), toxinas, infecciones virales, desnutrición, transformación neoplásica o tratamiento con fármacos inmunodepresores.

La sobreproducción y la activación precoz del sistema inmunitario y del complemento también pueden ser perjudiciales. La falta de diferenciación de las células del hospedero de un invasor extraño puede desencadenar una respuesta autoinmune en la que el sistema inmunitario del cuerpo ataca sus propios tejidos y órganos. El daño resultante puede ser acumulativo, como ocurre en la artritis reumatoide y la esclerosis múltiple, o agudo, como la destrucción completa de las células de los islotes pancreáticos que ocurre en la diabetes tipo 1. En América del Norte, los trastornos autoinmunes afectan a tres de cada 100 personas.

El cuadro 52-1 enumera varios de los más frecuentes.

RESUMEN

- La mayoría del plasma se sintetiza en el hígado. La mayoría está glicosilado.
- La albúmina representa aproximadamente 60%, en masa, del contenido de proteína del plasma. Como tal, es el principal determinante de la presión osmótica intravascular. La albúmina también se une a, y transporta, ácidos grasos, bilirrubina, iones metálicos y ciertos fármacos.
- La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular para evitar su escape al riñón, lo que evita la formación de precipitados dañinos en los túbulos.
- La ferritina se une y almacena hierro férrico dentro de las células.
- La transferrina transporta hierro a los sitios donde se requiere.
- La ceruloplasmina, la principal proteína que contiene cobre en el plasma, es una ferroxidasa que desempeña un papel clave en el reciclaje del hierro liberado cuando se destruyen los glóbulos rojos senescentes.
- La hepcidina regula la homeostasis del hierro al bloquear la internalización de la proteína de exportación de hierro celular, la ferrocidina.
- La expresión de hepcidina se estimula cuando la unión de complejos de transferrina a receptores de transferrina tipo 1 desplaza a la proteína HFE, que luego se une y activa los receptores de transferrina tipo 2.
- La hemocromatosis hereditaria es una enfermedad genética que implica una absorción excesiva de hierro.
- La α_1-antitripsina es el principal inhibidor de serina proteasa del plasma. Las deficiencias producidas genéticamente de esta proteína pueden provocar enfisema y enfermedad hepática.
- La α_2-macroglobulina es una proteína plasmática principal que neutraliza muchas proteasas y selecciona citocinas específicas para órganos específicos.
- Los seres humanos pueden sintetizar inmunoglobulinas que se dirigen específicamente a millones de antígenos diferentes.
- La estructura central de las inmunoglobulinas es un tetrámero que consiste en dos cadenas ligeras y dos pesadas dispuestas en una configuración en "Y".
- La síntesis de diversos anticuerpos de un conjunto limitado de genes es posible mediante la combinación, reorganización y mutación somática de genes de inmunoglobulina.
- La capacidad de sintetizar anticuerpos contra nuevos antígenos representa la característica definitoria del sistema inmune adaptativo.
- Las células de hibridoma pueden proporcionar anticuerpos monoclonales para uso clínico y de laboratorio.
- El sistema del complemento generalmente se activa por complejos formados entre microbios infectantes y anticuerpos protectores o entre polisacáridos ricos en manosa en la superficie del patógeno y proteína de unión a manosa.
- El sistema del complemento se activa mediante una serie de eventos de escisión proteolítica que transforman zimógenos inactivos en proteasas activas.
- Los trastornos autoinmunes se producen cuando el sistema inmune ataca los tejidos del cuerpo.

REFERENCIAS

Burtis CA, Ashwood EA, Bruns DE (eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4a. ed. Elsevier Saunders; 2006.

Carroll MV, Sim RB. Complement in health and disease. *Adv Drug Disc Rev* 2011;63:965.

Craig WY, Ledue TB, Ritchie RF. Plasma Proteins: Clinical Utility and Interpretation. Foundation for Blood Research; 2008.

Hentz MW, Muckenthaler MU, Gali B, *et al*. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell* 2010;142:24.

Noris M, Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation. *Sem Nephrol* 2013;33:479.

Schaller H, Gerber S, Kaempfer U, *et al*. Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function. Wiley; 2008.

CAPÍTULO

53

Glóbulos rojos

Peter J. Kennelly, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comprender el concepto de células madre y su importancia.
- Explicar por qué los glóbulos rojos dependen de la glucosa para obtener energía.
- Describir los roles de la eritropoyetina, la trombopoyetina y otras citocinas en la producción de glóbulos rojos y plaquetas.
- Describir los sistemas enzimáticos que protegen el hierro hem de la oxidación y reducen la metahemoglobina.
- Identificar los componentes principales del citoesqueleto de eritrocitos.
- Resumir las causas de los principales trastornos que afectan a los glóbulos rojos.
- Describir la función principal de la proteína banda 3 de eritrocitos.
- Explicar las bases bioquímicas de las sustancias del grupo sanguíneo ABO.
- Enumerar los principales componentes contenidos en los gránulos densos y los α gránulos en las plaquetas.
- Describir las bases moleculares de la púrpura trombocitopénica inmune y la enfermedad de Von Willebrand.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La evolución de una gran variedad de células sanguíneas de circulación libre fue fundamental para el desarrollo de la vida animal. El envasado de hemoglobina y anhidrasa carbónica dentro de células especializadas llamadas **eritrocitos** amplificó enormemente la capacidad de la sangre circulante para transportar oxígeno y dióxido de carbono lejos de los tejidos periféricos. La **anemia**, una deficiencia en el nivel de hemoglobina circulante (<120-130 g/L), compromete la salud al reducir la capacidad de la sangre para suministrar a los tejidos niveles adecuados de oxígeno. La anemia puede surgir a partir de una variedad de causas que incluyen anormalidades genéticas (p. ej., rasgo de células falciformes, anemia perniciosa), sangrado excesivo, insuficiencias de hierro o vitamina B_{12} en la dieta o lisis de glóbulos rojos por patógenos invasores (p. ej., malaria). Las **plaquetas** ayudan a detener la salida de sangre de los tejidos dañados. Los déficits en el número de plaquetas o en su función aumentan la vulnerabilidad del paciente a la hemorragia al reducir la velocidad de formación y la integridad estructural de los coágulos protectores. Como es el caso de la anemia, un bajo recuento de plaquetas, conocido como **trombocitopenia**, puede desencadenarse por una variedad de factores que incluyen infección bacteriana, algunos medicamentos que incluyen antibióticos que contienen sulfa o reacciones autoinmunes como la púrpura trombocitopénica idiopática. Otros síndromes fisiopatológicos, como la enfermedad de **Von Willebrand** y la **trombastenia de Glanzmann**, son causados por mutaciones genéticas que afectan la adherencia o la agregación plaquetaria en lugar de su abundancia.

LOS GLÓBULOS ROJOS SE DERIVAN DE LAS CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

Tanto los glóbulos rojos como las plaquetas se renuevan a un ritmo relativamente alto. Por tanto, los reemplazos se producen constantemente a partir de **células madre** precursoras. Las células madre poseen una capacidad única tanto para producir células hijas inalteradas (**autorrenovación**) como para generar una amplia gama de tipos de células especializadas (**potencia**). Por tanto, se considera que las células madre existen en un estado indiferenciado. Las células madre pueden ser **totipotentes** (capaces de producir todas las células de un organismo), **pluripotentes** (capaces de diferenciarse en células de cualquiera de las tres capas germinales), **multipotentes** (capaces de producir sólo células de una familia estrechamente relacionada) o **unipotentes** (capaz de producir sólo un tipo de célula). Las células madre también se clasifican como **embrionarias** o

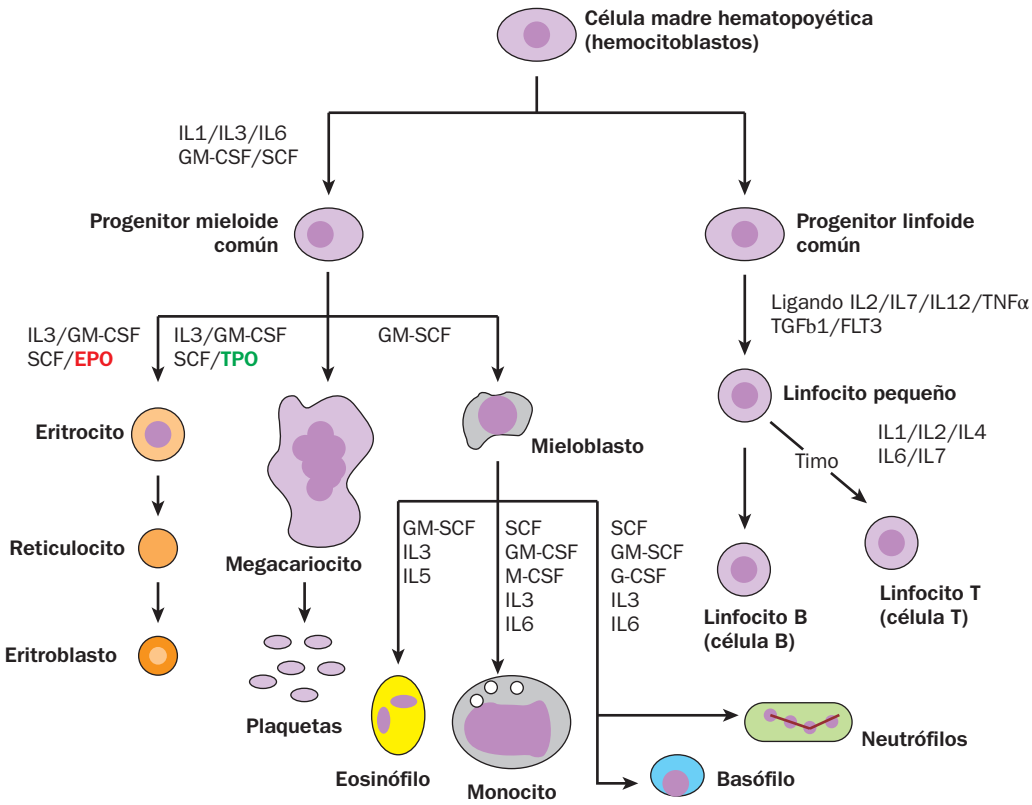


FIGURA 53-1 Hematopoyesis. Se muestra un esquema simplificado y muy abreviado que indica los caminos por los que las células madre hematopoyéticas se diferencian para producir muchos de los glóbulos rojos y blancos más cuantitativamente prominentes. Sólo se muestran los intermedios de desarrollo seleccionados. Los nombres para cada tipo de célula se indican en **negrita**. Los núcleos celulares se muestran en **púrpura**. Cada flecha resume una transición de múltiples etapas. Las hormonas y las citocinas que estimulan cada transición se enumeran al lado de las flechas. EPO (*erythropoietin*): eritropoyetina; ligando de FLT3, ligando de tirosina quinasa 3 similar a FMS; G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*): factor estimulante de colonias de granulocitos; GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*): factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos; IL (*interleukin*): interleucina; M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*): factor estimulante de colonias de macrófagos; SCF (*stem cell factor*): factor de células madre; TGF-β_1 (*transforming growth factor* β_1): factor de crecimiento transformante β_1; TNF-α (*tumor necrosis factor* **α**): factor de necrosis tumoral α; TPO (*thrombopoietin*): trombopoyetina.

adultas, estas últimas tienen una capacidad de diferenciación más limitada.

La diferenciación de las células madre hematopoyéticas está regulada por un conjunto de glucoproteínas secretadas llamadas **citocinas**. El factor de **células madre** y varios **factores estimulantes de colonias** colaboran con las interleucinas 1, 3 y 6 para estimular la proliferación de células madre hematopoyéticas en la médula ósea e inducir su diferenciación en uno de los numerosos tipos de células mieloides (**figura 53-1**). Luego, la **eritropoyetina** o la **trombopoyetina** dirigen a las células progenitoras mieloides para que de manera eventual se diferencien en eritrocitos o plaquetas, respectivamente.

LOS GLÓBULOS ROJOS SON ALTAMENTE ESPECIALIZADOS

Los eritrocitos maduros carecen de orgánulos internos

La estructura y composición de los glóbulos rojos reflejan su función altamente especializada: administrar la máxima cantidad de oxígeno a los tejidos y ayudar a eliminar el dióxido de carbono, un producto de desecho de la respiración celular y urea. El interior de un glóbulo rojo contiene una cantidad masiva de hemoglobina,

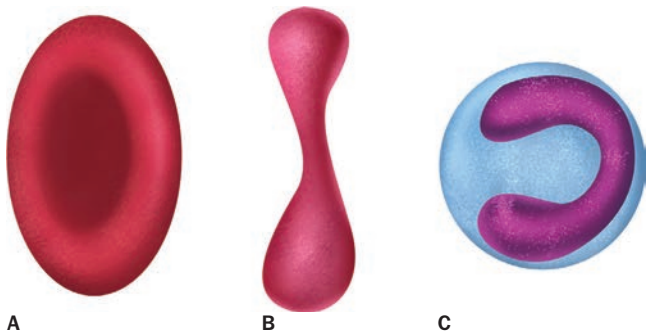


FIGURA 53-2 Los glóbulos rojos tienen forma de discos bicóncavos. Se muestran dibujos de A) un glóbulo rojo, B) una sección a través de un glóbulo rojo que ilustra su forma bicóncava y C) un glóbulo rojo plegado para pasar a través de un capilar ancho.

aproximadamente un tercio por peso (30-34 g/dL para un adulto). Esta extraordinaria concentración de hemoglobina se logra, en parte, prescindiendo de los orgánulos intracelulares que normalmente se encuentran en células eucariotas (p ej., núcleo, lisosoma, aparato de Golgi, mitocondrias). Como consecuencia, los glóbulos rojos **enucleados** maduros no pueden reproducirse.

Los glóbulos rojos poseen una extensa red citoesquelética responsable de mantener su configuración bicóncava (**figura 53-2**). Su forma inusual mejora el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre los eritrocitos y los tejidos de dos formas. En primer lugar, su configuración similar a un disco posee una relación mucho mayor de área de superficie-volumen que las formas más esféricas. En segundo lugar, permite que los glóbulos rojos se plieguen y atraviesen los capilares cuyo diámetro es más pequeño que el del propio eritrocito. Ambos factores reducen la distancia que las moléculas de gas deben difundir hacia y desde los eritrocitos que se mueven de manera muy rápida (hasta 2 mm/s).

Los eritrocitos generan ATP exclusivamente a través de la glucólisis

Los glóbulos rojos maduros carecen de las mitocondrias que contienen trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) sintasa y las enzimas del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA, *tricarboxylic acid cycle*), la cadena de transporte de electrones y la vía de β-oxidación. Por tanto, son incapaces de utilizar ácidos grasos o cuerpos cetónicos como combustible metabólico. En consecuencia, los glóbulos rojos son completamente dependientes de la glucólisis para generar ATP. La glucosa entra en los glóbulos rojos por **difusión facilitada** (véase capítulo 40), un proceso mediado por el **transportador de glucosa 1 (GLUT1**, *glucose transporter 1*), también conocido como glucosa permeasa (**cuadro 53-1**).

La ruta glucolítica en los glóbulos rojos también posee una rama única, o derivación, cuyo propósito es isomerizar 1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG) a **2,3-bisfosfoglicerato** (2,3-BPG). 2,3-BPG se une y estabiliza la hemoglobina en el estado T (véase capítulo 6). La conversión de 1,3-BPG a 2,3-BPG está catalizada por 2,3-BPG mutasa, una enzima bifuncional que también cataliza la hidrólisis de 2,3-BPG para el intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato. Una segunda enzima, inositol polifosfato fosfatasa múltiple, también cataliza la hidrólisis de 2,3-BPG para el intermediario glucolítico 2-bisfosfoglicerato. Las actividades de estas enzimas son sensibles al pH, lo que garantiza que los niveles de 2,3-BPG suban y bajen en los momentos adecuados durante el ciclo de transporte de oxígeno.

Varios aspectos del metabolismo del glóbulo rojo, muchos de los cuales se analizan en otros capítulos, se resumen en el **cuadro 53-2**.

CUADRO 53-1 Algunas propiedades del transportador de glucosa de la membrana del glóbulo rojo (GLUT1)

- Representa ~2% de la proteína de la membrana del RBC.
- Exhibe especificidad por la glucosa y las D-hexosas relacionadas (las L-hexosas no se transportan).
- El transportador funciona a ~75% de su $V_{máx}$ a la concentración fisiológica de glucosa en sangre, es saturable y puede ser inhibido por ciertos análogos de glucosa.
- Es un miembro de una familia de transportadores de glucosa homólogos que se encuentran en tejidos de mamíferos.
- No depende de la insulina, a diferencia del portador correspondiente en músculo y tejido adiposo.
- Su secuencia de 492 aminoácidos ha sido determinada.
- Transporta glucosa cuando se inserta en liposomas artificiales.
- Se estima que contiene 12 segmentos de hélice transmembranal.
- Funciona al generar un poro cerrado en la membrana para permitir el paso de la glucosa; el poro depende de la conformación de la glucosa y puede oscilar rápidamente (~900 veces/s).

CUADRO 53-2 Aspectos importantes del metabolismo del glóbulo rojo

- El RBC es altamente dependiente de la glucosa como su fuente de energía, para lo cual su membrana contiene transportadores de glucosa de alta afinidad.
- La glucólisis, que produce lactato, es el modo de producción de ATP.
- Debido a que los RBC carecen de mitocondrias, no hay producción de ATP por fosforilación oxidativa.
- El RBC tiene una variedad de transportadores que mantienen el equilibrio iónico y el agua.
- La producción de 2,3-bisfosfoglicerato por reacciones estrechamente asociadas con la glucólisis es importante para regular la capacidad de la Hb para transportar oxígeno.
- La vía de la pentosa fosfato del RBC metaboliza alrededor de 5-10% del flujo total de glucosa y produce nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*). La anemia hemolítica es común debido a una deficiencia de la actividad de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa.
- La reducción del glutatión (GSH, *glutathione*) es importante en el metabolismo del RBC, en parte para contrarrestar la acción de peróxidos potencialmente tóxicos. El RBC puede sintetizar GSH y el NADPH requerido para devolver el glutatión oxidado (G-S-S-G) al estado reducido de GSH.
- El hierro de la Hb debe mantenerse en estado ferroso. El hierro férrico se reduce al estado ferroso por la acción de un sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH que involucra la citocromo b_5 reductasa y el citocromo b_5.
- Si bien la biosíntesis de glucógeno, ácidos grasos, proteínas y ácidos nucleicos no se produce en los RBC, algunos lípidos (p ej., colesterol) en la membrana de los glóbulos rojos pueden intercambiarse con los lípidos plasmáticos correspondientes.
- El RBC contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótidos (p. ej., adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilil quinasa). Las deficiencias de estas enzimas están involucradas en algunos casos con anemia hemolítica.
- Cuando los glóbulos rojos alcanzan el final de su vida útil, la globina se degrada a aminoácidos (que se reutilizan en el cuerpo), el hierro se libera del hem y se reutiliza, y el componente tetrapirrol del hem se convierte en bilirrubina, que se excreta principalmente en el intestino a través de la bilis.

La anhidrasa carbónica facilita el transporte de CO_2

Al igual que el oxígeno, la solubilidad del dióxido de carbono en la solución acuosa es baja, demasiado baja para dar cabida a más de un pequeño porcentaje del CO_2 producido por los tejidos metabólicamente activos. Sin embargo, la solubilidad de la forma hidratada de CO_2, ácido carbónico (H_2CO_3) y su producto de disociación protónica, el bicarbonato (HCO_3-) es relativamente alta. La presen-

cia de altos niveles de la enzima anhidrasa carbónica (véase figura 6-11) les permite a ambos absorber CO_2 residual al catalizar su conversión rápida a ácido carbónico, y revertir este proceso para facilitar su expulsión en los pulmones. Mientras que los glóbulos rojos transportan algo de CO_2 en forma de carbamatos unidos a la hemoglobina (véase capítulo 6), aproximadamente 80% se transporta como ácido carbónico disuelto y bicarbonato.

LAS GLÓBULOS ROJOS DEBEN SER REEMPLAZADOS CONTINUAMENTE

Alrededor de dos millones de glóbulos rojos ingresan a la circulación por segundo

La **vida** de **120 días** de un glóbulo rojo normal, requiere que casi 1% de los 20 a 30 trillones de eritrocitos en un individuo sea reemplazado diariamente. Esto equivale a una tasa de producción de ~2 millones de glóbulos rojos nuevos por segundo. Cuando se formaron en su inicio, los glóbulos rojos diferenciados retienen una porción de los ribosomas, el retículo endoplásmico, las mitocondrias, etc., que estaban presentes en sus precursores nucleados. En consecuencia, durante las ≈24 horas requeridas para completar la maduración de los eritrocitos, estos glóbulos rojos nacientes, llamados **reticulocitos**, retienen la capacidad de sintetizar polipéptidos (p ej., globina) bajo la dirección de las moléculas vestigiales de ácido ribunucleico mensajero, mRNA (*ribonucleic acid messenger*).

En casos raros, las mutaciones genéticas que conducen a un deterioro de la función del ribosoma, llamadas **ribomiopatías**, pueden producir hipoplasia de los glóbulos rojos. La **anemia de Diamond-Blackfan** es causada por mutaciones en el gen que codifica la proteína de procesamiento ribosomal RPS19. El **síndrome 5q**, que presenta un cuadro clínico similar, es causado por mutaciones que conducen a una insuficiencia de la proteína ribosómica RPS14.

La eritropoyetina regula la producción de glóbulos rojos

Las etapas iniciales de la **eritropoyesis**, la producción de glóbulos rojos, están moduladas por el factor de células madre, factores estimulantes de colonias e interleucinas 1, 3 y 6. El compromiso de las células progenitoras mieloides para diferenciarse en eritrocitos es en gran parte dependiente de la **eritropoyetina (EPO)**, una glucoproteína de 166 aminoácidos (masa molecular ≈34 kDa). La EPO, que se sintetiza principalmente en el riñón, se libera al flujo sanguíneo en respuesta a la hipoxia. Al llegar a la médula ósea, la EPO estimula a los progenitores de los glóbulos rojos a través de un receptor transmembranal. La unión de EPO a su receptor estimula la dimerización del receptor y la activación de las moléculas asociadas de la proteína-tirosina quinasa Jak2.

La eritropoyetina se administra terapéuticamente para tratar las anemias derivadas de la insuficiencia renal crónica, los trastornos de las células madre hematopoyéticas (**mielodisplasia**) o los efectos colaterales de los tratamientos químicos y radiológicos para el cáncer. Hoy en día, la tecnología de DNA recombinante ha permitido producir cantidades sustanciales de eritropoyetina a partir de células humanas cultivadas. Como se describe en el capítulo 49, los científicos están trabajando para aumentar la eficacia de la dosis de EPO recombinante manipulando la composición de sus cadenas de polisacáridos.

LA OXIDACIÓN DEL HIERRO HEM COMPROMETE EL TRANSPORTE DE OXÍGENO

La citocromo b_5 reductasa reduce la metahemoglobina

Los átomos de hierro ferroso, Fe^{2+} en la hemoglobina son susceptibles a la oxidación por parte de las **especies reactivas del oxígeno (ROS**, ***reactive oxygen species***). La hemoglobina en la cual uno o más hierros hem se han oxidado al estado férrico (Fe^{3+}) se llama **metahemoglobina**. Los hem férricos no se unen al oxígeno, lo que no sólo reduce el número de sitios de unión al O_2, sino que también puede interferir con las interacciones cooperativas entre las subunidades del tetrámero de hemoglobina (véase capítulo 6). La capacidad de rescatar la metahemoglobina al reducir el hierro férrico es, por tanto, de gran importancia fisiológica. En los glóbulos rojos, la reducción de metahemoglobina es catalizada por el sistema NADH-citocromo b_5 metahemoglobina reductasa. El primer componente del sistema, una flavoproteína llamada **citocromo b_5** reductasa (también conocida como metahemoglobina reductasa), transfiere electrones del **NADH** al segundo componente, el **citocromo b_5**, utilizando electrones suministrados por NADH:

$$\text{Cyt } b_{5ox} + \text{NADH} \rightarrow \text{Cyt } b_{5red} + \text{NAD}^+$$

El citocromo reducido b_5 luego transfiere los electrones a metahemoglobina, reduciendo Fe^{3+} al estado Fe^{2+}, restaurando la hemoglobina a un estado completamente funcional:

$$\text{Hb} - \text{Fe}^{3+} + \text{Cyt } b_{5red} \rightarrow \text{Hb} - \text{Fe}^{2+} + \text{Cyt } b_{5ox}$$

La fuente final de los electrones utilizados para reducir la metahemoglobina es la glucólisis, donde NAD^+ se reduce a NADH por acción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. La eficiencia de este sistema es tal que sólo cantidades mínimas de metahemoglobina están normalmente presentes en los eritrocitos.

La metahemoglobinemia es heredada o adquirida

La **metahemoglobinemia**, la acumulación anormal de metahemoglobina, puede surgir de anomalías genéticas (metahemoglobinemia hereditaria) o de la ingestión de ciertos medicamentos y productos químicos (metahemoglobinemia adquirida) como sulfonamidas o anilina (**cuadro 53-3**). Los pacientes afectados a menudo muestran una coloración azulada de la piel y las membranas mucosas (cianosis). La forma hereditaria más común surge de una deficiencia en la cantidad o actividad del **citocromo b_5 reductasa**, aunque también se han encontrado mutaciones que afectan las propiedades del citocromo b_5. En raras ocasiones, la metahemoglobinemia puede ser el resultado de mutaciones en la hemoglobina, como las que afectan a los residuos de histidina proximal y distal (véase figura 6-3), que la hacen más susceptible a la oxidación. En conjunto, denominados hemoglobina M (HbM, *hemoglobin M*), estos incluyen HbM_{Iwate}, en el que His87 en la subunidad α se reemplaza por Tyr;

CUADRO 53-3 Resumen de las causas de algunos trastornos importantes que afectan a los glóbulos rojos

Trastorno	Principal causa o única
Anemia por deficiencia de hierro	Consumo inadecuado o pérdida excesiva de hierro
Metahemoglobinemia	Consumo excesivo de oxidantes (diversos productos químicos y medicamentos) Deficiencia genética en el sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH (OMIM 250800) Herencia de HbM (OMIM 141900)
Anemia de células falciformes (OMIM 603903)	Secuencia del codón 6 de la cadena β cambiado de GAG en el gen normal a GTC en el gen de la célula falciforme, lo que resulta en la sustitución de valina por el ácido glutámico
α-Talasemias(OMIM 141800)	Mutaciones en los genes de α-globina, principalmente cruzamiento desigual y grandes deleciones y, con menor frecuencia, mutaciones sin sentido y con desplazamiento del marco de lectura
β-Talasemias (OMIM 141900)	Una amplia variedad de mutaciones en el gen de la β-globina, incluyendo deleciones, mutaciones sin sentido y desplazamiento del marco, y otras que afectan cada aspecto de su estructura (p. ej., sitios de unión, mutantes promotores)
Anemias megaloblásticas	Deficiencia de vitamina B12. Disminución de la absorción de B_{12}, a menudo debido a una deficiencia del factor intrínseco, normalmente secretada por las células parietales gástricas. Deficiencia de ácido fólico. Disminución de consumo, absorción defectuosa o aumento de la demanda de folato (p. ej., en el embarazo)
Esferocitosis hereditaria[a] (OMIM 182900)	Deficiencias en la cantidad o en la estructura de α- o β-espectrina, banda 3 o banda 4.1.
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD,*glucose-6-phosphate dehydrogenase*)[a] (OMIM 305900)	Una variedad de mutaciones en el gen (ligadas a X) para G6PD, en su mayoría mutaciones puntuales
Deficiencia de piruvato quinasa (PK, *pyruvate kinase*)[a] (OMIM 266200)	Una variedad de mutaciones en el gen para la isozima R (glóbulos rojos) de PK
Hemoglobinuria paroxística nocturna[a] (OMIM 311770)	Mutaciones en el gen PIG-A, que afectan a la síntesis de proteínas ancladas a GPI

[a] Los miembros de OMIM se aplican sólo a los trastornos con una base genética.

$HbM_{Hyde\ Park}$, en el que His92 de la subunidad β se reemplaza por Tyr; HbM_{Boston}, en el que His58 en las subunidades α de la hemoglobina se reemplaza por Tyr; y $HbM_{Saskatoon}$, en el que His92 en la subunidad β se reemplaza por Tyr. Una excepción a este patrón es $HbM_{Milwaukee\text{-}1}$, en el que Val67 de la subunidad β se reemplaza por Glu. Todos los portadores conocidos de HbM son heterocigotos.

Superóxido dismutasa, catalasa y el glutatión protegen las células sanguíneas del estrés y daño oxidativo

El anión radical superóxido, O_2^-, se genera en los glóbulos rojos por la autooxidación de la hemoglobina a la metahemoglobina. Este ROS potente puede reaccionar y dañar proteínas, lípidos, nucleótidos y otras biomoléculas (véase capítulo 58). Aproximadamente 3% de la hemoglobina de sangre humana se somete a autooxidación todos los días. Además, la oxidación de la proteína de almacenamiento de hierro ferritinapor superóxido puede dar como resultado la liberación de Fe^{2+} libre y la posterior generación de $OH^{\bullet}$ catalizada por hierro (véase la figura 58-2). El superóxido puede producir el daño tisular que se produce en personas que sufren niveles anormalmente altos de hierro en el cuerpo, conocido como sobrecarga de hierro. La sobrecarga de hierro es característica de las personas que padecen **hemocromatosis hereditaria**, una condición genética que hace que el cuerpo absorba cantidades excesivas de hierro de la dieta. Otra fuente endógena de superóxido es la enzima **NADPH-hemoproteína reductasa** (una reductasa del citocromo P450, véase capítulo 12), otra enzima que puede catalizar la reducción del Fe^{3+} en la metahemoglobina a Fe^{2+}.

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es una causa importante de anemia hemolítica

El conjunto limitado de vías metabólicas presentes en los glóbulos rojos los hace completamente dependientes de la **ruta de la pentosa fosfato** (véase capítulo 20) o, para ser más específicos, la enzima **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** ligada a X para la reducción de $NADP^+$ a NADPH. La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es la más común de todas las enzimopatías (enfermedades causadas por anormalidades de las enzimas). Se estima que más de 400 millones de personas tienen una de las más de 140 variantes genéticas de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Esta deficiencia es más común entre los nativos de África tropical (y sus descendientes afroamericanos), el Mediterráneo y ciertas partes de Asia.

Los individuos que albergan esta deficiencia son vulnerables a los ataques de anemia hemolítica, una consecuencia de su incapaci-

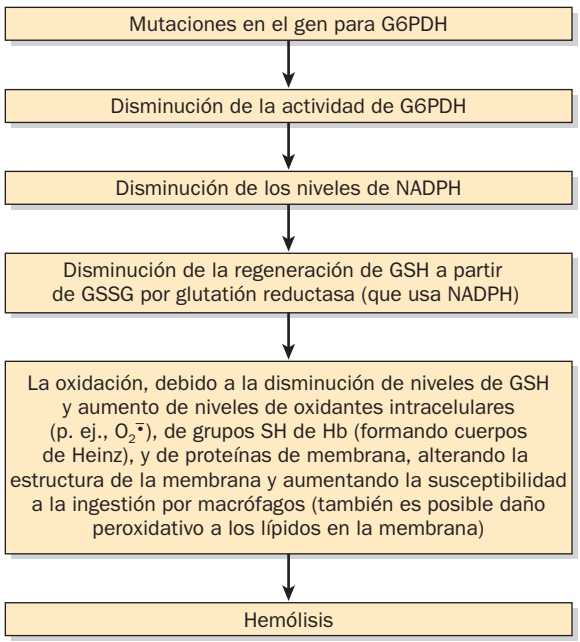


FIGURA 53-3 **Resumen de los eventos probables que causan anemia hemolítica debido a la deficiencia de la actividad de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (OMIM 305900).**

dad para generar suficiente NADPH para mantener el glutatión, un antioxidante intracelular clave, en estado reducido (**figura 53-3**).

Una deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa hace que los glóbulos rojos sean hipersensibles al estrés oxidativo y la formación de **cuerpos de Heinz**, agregados insolubles que consisten en moléculas de hemoglobina cuyos grupos -SH se han oxidado y que se tiñen de violeta con violeta de cresilo. Al igual que el rasgo drepanocítico, la persistencia de estas variantes genéticas se ha atribuido a su potencial para conferir una mayor resistencia a la malaria.

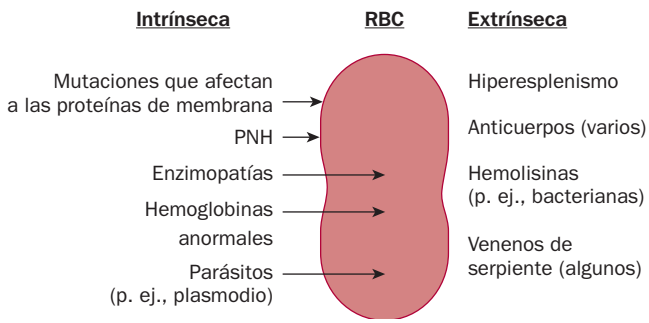


FIGURA 53-4 **Diagrama esquemático de algunas causas de las anemias hemolíticas.** Las causas extrínsecas incluyen hiperesplenismo, diversos anticuerpos, ciertas hemolisinas bacterianas y algunos venenos de serpiente. Las causas intrínsecas de los glóbulos rojos incluyen mutaciones que afectan las estructuras de las proteínas de membrana (p. ej., en la esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria), hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH, véase capítulo 47), enzimopatías, hemoglobinas anormales y ciertos parásitos (p. ej., plasmodios que causan malaria).

Las anemias hemolíticas pueden ser causadas por factores extrínsecos, intrínsecos o específicos de la membrana

La anemia hemolítica puede desencadenarse por otros factores, además de una deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (**figura 53-4**). Las causas **extrínsecas** (más allá de la membrana eritrocitaria) incluyen el **hiperesplenismo**, en el que la dilatación del bazo hace que los glóbulos rojos queden atrapados dentro de este órgano. Los eritrocitos también pueden lisarse si son atacados por anticuerpos incompatibles presentes en plasma o sangre administrados por vía intravenosa (p. ej., **reacción a la transfusión**). Las incompatibilidades inmunológicas pueden surgir cuando un feto Rh^+ es portado por una madre Rh^-(**enfermedad Rh**) o como consecuencia de un trastorno autoinmune (p. ej., **anemias hemolíticas por anticuerpos cálidos** o **fríos**). Algunos agentes infecciosos y tóxicos actúan al socavar de manera directa la integridad estructural de la membrana eritrocítica. Por ejemplo, muchos venenos de insectos y reptiles de diversas especies contienen fosfolipasas o proteasas que catalizan la degradación hidrolítica de los componentes de la membrana. De manera similar, algunas bacterias infecciosas, que incluyen ciertas cepas de *Escherichia coli* y clostridio, secretan factores líticos llamados **hemolisinas**, que pueden estar compuestos por proteínas, lípidos o alguna combinación de los mismos. Las infecciones parasitarias (p. ej., los plasmodios que causan la malaria) también son una causa principal de anemias hemolíticas en ciertas áreas geográficas.

La causa principal de muchas anemias hemolíticas es intracelular, también conocida como **intrínseca**. La deficiencia de gluocosa-6-fosfato deshidrogenasa cae en esta categoría. Los defectos en la composición o estructura de la hemoglobina, llamados **hemoglobinopatías**, constituyen la segunda causa principal intrínseca de hemólisis. La mayoría de las hemoglobinopatías, como la anemia drepanocítica y las diversas talasemias (véase capítulo 6), son de naturaleza genética. En casos raros, la anemia hemolítica puede surgir de una insuficiencia en la enzima **piruvato quinasa**. El deterioro resultante de la glucólisis reduce la producción del ATP requerido para impulsar la exportación de exceso de agua y Na^+. La presión osmótica resultante (véase a continuación) puede comprometer y potencialmente abrumar la integridad de la membrana de eritrocitos.

Las mutaciones que afectan a las proteínas del citoesqueleto responsables de mantener su forma bicóncava y resistencia a la presión osmótica se clasifican como causas **específicas de la membrana** de la anemia hemolítica (véase a continuación). Las más importantes son la **esferocitosis hereditaria** y la **eliptocitosis hereditaria**, que surgen de anomalías en la cantidad o estructura de la proteina del citoesqueleto espectrina. Los defectos también pueden ocurrir en la síntesis de los grupos glucofosfatidilinositol que anclan ciertas proteínas, como la acetilcolinesterasa y el factor de aceleración de la descomposición, a la superficie de la membrana eritrocítica, como es el caso en la **hemoglobinuria paroxística nocturna** (véase capítulo 46).

LA MEMBRANA DEL GLÓBULO ROJO

Los primeros análisis por **SDS-PAGE** de los polipéptidos presentes en los glóbulos rojos revelaron 10 proteínas principales (**figura 53-5**). A estas proteínas se les asignaron inicialmente denominadores numéricos en función de su migración en SDS-PAGE. Por tanto, el polipéptido con la masa molecular más alta, que migra más lenta-

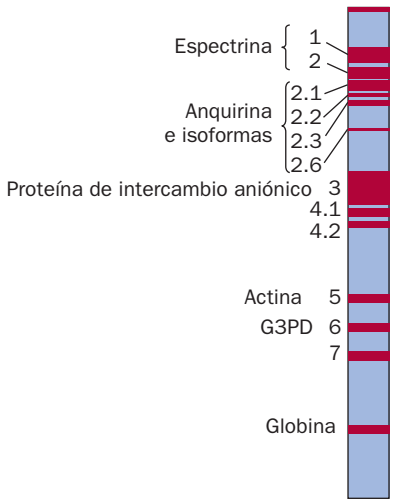


FIGURA 53-5 Principales proteínas de membrana del glóbulo rojo humano. Las proteínas separadas por SDS-PAGE se detectaron mediante tinción con colorante azul de Coomassie. (Reproducido, con permiso, de Beck WS, Tepper RI. Hemolytic anemias III: membrane disorders. In: *Hematology*, 5a. ed. Beck WS, (editor). The MIT Press; 1991).

mente, se denominó proteína de la banda 1, también conocida como **espectrina** (**cuadro 53-4**). Como se ilustra en la **figura 53-6**, algunas de estas proteínas están glucosiladas. Varias proteínas abarcan la membrana bicapa (proteínas integrales de membrana), mientras que otras se asocian con su superficie, por lo general a través de interacciones proteína-proteína (proteínas periféricas de membrana).

CUADRO 53-4 Principales proteínas de la membrana de glóbulos rojos

Número de banda[a]	Proteína	Integral (I) o periférico (P)	Masa molecular aproximada (kDa)
1	Espectrina (α)	P	240
2	Espectrina (β)	P	220
2.1	Anquirina	P	210
2.2	Anquirina	P	195
2.3	Anquirina	P	175
2.6	Anquirina	P	145
3	Proteína de intercambio de aniones	I	100
4.1	Sin nombre	P	80
5	Actina	P	43
6	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	P	35
7	Tropomiosina	P	29
8	Sin nombre	P	23
	Glucoforinas A, B y C	I	31, 23 y 28

[a] El número de banda se refiere a las tasas relativas de migración en SDS-PAGE (véase figura 53-5). Una cantidad de otros componentes (p. ej., 4.2 y 4.9) no están listados.

Fuente: Adaptado de Lux DE, Tse WT. Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. In: *The Metabolic basis of inherited Disease*. 8a. ed. Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, *et al* (eds.). McGraw-Hill; 2001. Chapter 183.

La membrana del glóbulo rojo contiene proteína de intercambio aniónico y glucoforinas

La proteína banda 3 es una glucoproteína transmembrana **multipaso** cuya cadena polipeptídica cruza la bicapa 14 veces. La proteína banda 3 está orientada con su extremo carboxilo terminal que se proyecta desde la superficie externa de la membrana de eritrocitos y su extremo amino terminal desde la cara citosólica. La función principal de esta **proteína** dimérica **de intercambio aniónico** es proporcionar un canal a través de la membrana por el cual se pueden intercambiar aniones de cloruro y bicarbonato. En los tejidos, el bicarbonato generado por la hidratación de CO_2 se intercambia por cloruro. En los pulmones, donde se exhala el dióxido de carbono, este proceso se revierte. El extremo amino terminal también sirve como punto de anclaje para muchas otras proteínas de glóbulos rojos, incluidas las proteínas banda 4.1 y 4.2, anquirina, hemoglobina y varias enzimas glucolíticas.

Las **glucoforinas A, B** y **C** son proteínas transmembrana de un **solo paso** (la cadena polipeptídica cruza la membrana sólo una vez). El único segmento transmembrana de 23 aminoácidos es α-helicoidal en configuración. La forma predominante, la **glucoforina A**, está compuesta por un polipéptido de 131 aminoácidos modificado covalentemente por cadenas de 16 oligosacáridos, 15 de ellas ligadas a O, que representan aproximadamente 60% de su masa y casi 90% de los residuos de ácido siálico expuestos en la superficie de la membrana de glóbulos rojos. El extremo carboxilo terminal se extiende al citosol y se une a la proteína de la banda 4.1, que a su vez se une a la espectrina. El **polimorfismo** de la glucoforina A sirve como base del sistema del grupo sanguíneo MN (véase a continuación). Algunos patógenos virales y bacterianos, como el virus de la gripe y *Plasmodium falciparum*, se dirigen a los eritrocitos al reconocer y unirse a la glucoforina A. De manera curiosa, los individuos cuyos glóbulos rojos carecen de glucoforina A no muestran efectos adversos.

Espectrina, anquirina y otras proteínas de membrana periférica ayudan a determinar la forma y la flexibilidad del glóbulo rojo

Con el fin de maximizar la eficiencia del intercambio gaseoso, los glóbulos rojos deben poseer la resistencia estructural para mantener su forma bicóncava, pero siguen siendo lo suficientemente flexibles para exprimir a través de capilares periféricos y los sinusoides del bazo. La base estructural que moldea y mantiene el fluido inherente de la membrana y la bicapa lipídica deformable en la forma bicóncava característica del eritrocito es proporcionada por una red fuerte pero flexible de **proteínas del citoesqueleto** (figura 53-6).

La **espectrina** es la proteína más abundante del citoesqueleto de eritrocitos. Está compuesto por dos polipéptidos de más de 2 100 residuos de longitud: espectrina 1 (cadena α) y espectrina 2 (cadena β). Las cadenas α y β de cada dímero de espectrina se entrelazan en una orientación antiparalela para formar una unidad estructural altamente extendida de ≈100 nm de longitud. Normalmente, dos dímeros de espectrina se asocian uno a uno para formar un heterotetrámero de aproximadamente 200 nm de largo que está unido a la superficie interna de la membrana plasmática (y está puenteado con otros tetrámeros de espectrina) a través de anquirina, actina y proteína banda 4.1. El resultado es una malla interna, el citoesque-

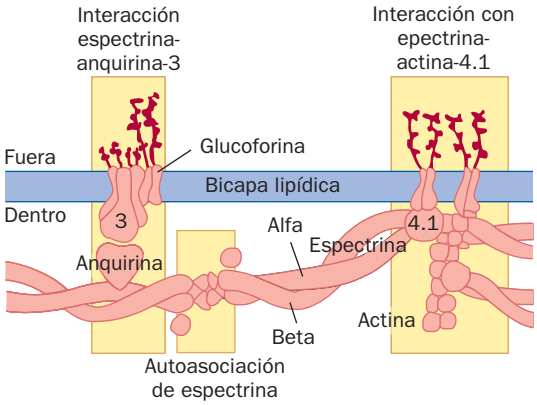


FIGURA 53-6 Interacciones de proteínas citoesqueléticas entre sí y con ciertas proteínas integrales de la membrana del glóbulo rojo. (Reproducido, con permiso, de Beck WS, Tepper RI. Hemolytic anemias III: membrane disorders. In: *Hematology*, 5a ed. Beck WS, (editor). The MIT Press; 1991).

leto, que es lo suficientemente fuerte como para mantener la forma de la célula y resistir la hinchazón debido a la presión osmótica, pero lo suficientemente flexible como para permitir que el eritrocito se pliegue cuando sea necesario.

La **anquirina** es una proteína en forma de pirámide que se **une a la espectrina**. A su vez, anquirina se une fuertemente a la banda 3, asegurando la unión de espectrina a la membrana. La anquirina es sensible a la proteólisis, lo que explica la aparición de las bandas 2.2, 2.3 y 2.6, todas derivadas de la banda 2.1.

La **actina** (banda 5) existe en los glóbulos rojos como filamentos cortos, dobles y helicoidales de la actina F. El extremo final de los dímeros de espectrina se une a la actina. La actina también se une a la **proteína 4.1**. La proteína 4.1 es una proteína globular que se une fuertemente a un sitio cerca del dominio de unión a actina en la cola de la espectrina para formar un complejo ternario de proteína-4-espectrina-actina. La proteína 4.1 también se une a las proteínas integrales de membrana, la glucoforina A y la glucoforina C, así como ciertos fosfolípidos, anclando así el complejo ternario a la membrana.

Algunas otras proteínas cuantitativamente menos prominentes, como la banda 4.9, la adducina y la tropomiosina, también participan en el **ensamblaje del citoesqueleto**.

Anormalidades en la cantidad o estructura de espectrina causan esferocitosis y eliptocitosis hereditaria

La **esferocitosis hereditaria**, una enfermedad genética transmitida como autosómica dominante, se caracteriza por la presencia de esferocitos (glóbulos rojos esféricos) en la sangre periférica, por **anemia hemolítica** y por esplenomegalia. Su forma anormal, a su vez, hace que los esferocitos sean menos deformables y más propensos a la destrucción en el bazo, acortando de esta manera su vida en la circulación. Esta afección, que afecta aproximadamente a 1 de cada 5 000 personas de ascendencia del norte de Europa, es causada por una deficiencia en la cantidad o anomalías en la estructura de la **espectrina** o, con menor frecuencia, anquirina o las proteínas banda 3, 4.1 o 4.2. La pérdida de estas proteínas o la reducción de su capacidad para asociarse con otros componentes del citoesqueleto debilitan los enlaces que unen la membrana eritrocítica al citoesqueleto, permitiendo que el eritrocito se hinche en forma esférica. La anemia asociada con la esferocitosis hereditaria por lo general se alivia mediante la extirpación quirúrgica del bazo del paciente (**esplenectomía**).

La **eliptocitosis hereditaria** se puede distinguir fácilmente de la esferocitosis hereditaria en virtud del hecho de que los glóbulos rojos afectados adoptan una forma elíptica. Esta condición es el resultado de anomalías genéticas que afectan a la espectrina o, con menor frecuencia, a la proteína banda 4.1 o la glucoforina C.

LA BASE BIOQUÍMICA DEL SISTEMA ABO

Se han reconocido alrededor de 30 sistemas de grupos sanguíneos humanos, los más conocidos son los sistemas **ABO**, **Rh** (Rhesus) y **MN**. El término "**grupo sanguíneo**" se refiere a un conjunto definido de antígenos de glóbulos rojos, o sustancias del grupo sanguíneo, controladas por un *locus* genético que tiene un número variable de alelos (p. ej., A, B y O en el sistema ABO). El término "**tipo de sangre**" se refiere al fenotipo antigénico, reconocido por lo general debido al uso de anticuerpos apropiados.

El sistema ABO tiene una importancia crucial en la transfusión de sangre

El sistema ABO fue descubierto por Landsteiner en 1900 mientras investigaba la base de las transfusiones compatibles e incompatibles en humanos. Las membranas de los eritrocitos de la mayoría de los individuos contienen una sustancia del grupo sanguíneo, ya sea tipo A, B, AB u O. Los individuos de **tipo A** tienen anticuerpos anti-B en su plasma que aglutinarán los eritrocitos en sangre tipo B o tipo AB. Los individuos de **tipo B** tienen anticuerpos anti-A que aglutinarán eritrocitos tipo A o **tipo AB**. La sangre tipo AB no tiene anticuerpos anti-A ni anti-B, y ha sido designada **receptor universal**. La sangre de **tipo O** no tiene antígenos A ni B, y ha sido designada **donante universal**. La descripción anterior se ha simplificado de manera considerable, ya que existen otros subgrupos como A_1 y A_2. Los genes responsables de la producción de las sustancias ABO están presentes en el brazo largo del cromosoma 9. Existen **tres alelos**, dos de los cuales son codominantes (A y B) y el tercero (O) recesivo; estos determinan finalmente cuál de los cuatro productos fenotípicos se sintetiza: las sustancias A, B, AB y O.

Los antígenos ABO son glucoesfingolípidos y glucoproteínas

Los **antígenos ABO** son oligosacáridos complejos presentes en la mayoría de las células del cuerpo y en ciertas secreciones (**figura 53-7**). Estos oligosacáridos están unidos a proteínas de membrana o lípidos, y se denominan colectivamente sustancias ABO. Para los glóbulos rojos, los oligosacáridos de la membrana que determinan la naturaleza antigénica de las sustancias ABO parecen estar presentes principalmente en los glucoesfingolípidos, mientras que en las secreciones los mismos oligosacáridos están presentes en las **glucoproteínas**. Su presencia en las secreciones está determinada por un gen denominado ***Se*** (para secretor), que codifica una **fucosil** (**Fuc**, *fucosyl*) **transferasa** específica en órganos secretores, como las glándulas exocrinas, pero que no está activa en los glóbulos rojos. Los individuos de genotipos *SeSe* o *Sese* secretan uno o ambos antígenos A y B, mientras que los individuos del genotipo de *sese* no

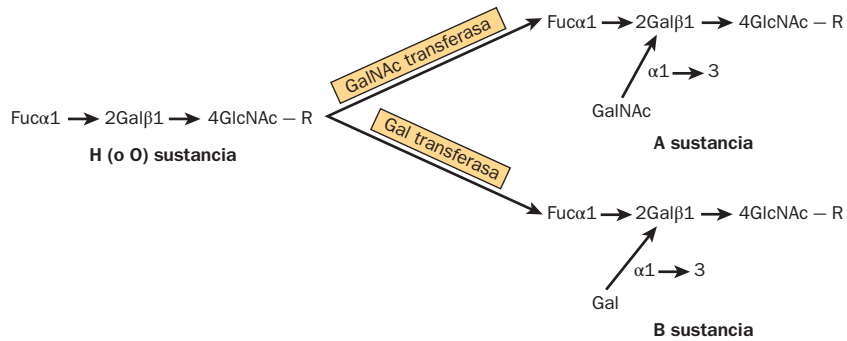


FIGURA 53-7 Representación esquemática de las estructuras de las sustancias del grupo sanguíneo H, A y B. R representa un complejo largo de cadena de oligosacáridos, unidos a la ceramida en la que las sustancias son glucoesfingolípidos, o al esqueleto polipeptídico de una proteína a través de un residuo de serina o treonina en el que las sustancias son glucoproteínas. Tenga en cuenta que las sustancias del grupo sanguíneo son biantenarias; es decir, tienen dos brazos, formados en un punto de ramificación (no indicado) entre GlcNAc-R, y sólo se muestra un brazo de la rama. Por tanto, las sustancias H, A y B contienen cada una dos de sus respectivas cadenas cortas de oligosacáridos mostradas anteriormente. La sustancia AB contiene una cadena tipo A y una cadena tipo B.

lo hacen. Sin embargo, sus glóbulos rojos pueden expresar los antígenos A y B.

El gen *A* codifica una GalNAc transferasa, el gen *B* una Gal transferasa y el gen O un producto inactivo

La sustancia H, sustancia del grupo sanguíneo encontrada en personas de tipo O, es el precursor de las sustancias A y B (figura 53-7). Se forma por la acción de una **fucosiltransferasa**, codificada por el *locus* H, que cataliza la adición de una fucosa α1 → 2 enlazada al residuo Gal terminal de su precursor:

$$\underset{\text{Precursor}}{\text{GDP} - \text{Fuc} + \text{Gal} - \beta - \text{R}} \rightarrow \underset{\text{sustancia H}}{\text{Fuc} - \alpha 1, 2 - \text{Gal} - \beta - \text{R}} + \text{GDP}$$

La **sustancia A** contiene un GalNAc adicional, mientras que la **sustancia B** contiene un Gal adicional, vinculado como se indica.

Estas diferencias reflejan la especificidad de la glucosiltransferasa que cataliza la adición del monosacárido terminal. El gen A codifica una **GalNAc transferasa** específica de UDP-GalNAc que agrega el GalNAc terminal a la sustancia H. El gen *B* codifica una **Gal transferasa** específica de UDP-Gal que agrega el residuo Gal a la sustancia H. Los individuos de **tipo AB** poseen ambas enzimas, y así sintetizan dos cadenas de oligosacáridos (figura 53-7), una terminada por GalNAc y la otra por Gal.

Los anticuerpos anti-A se dirigen al residuo de GalNAc adicional presente en la sustancia A, y los anticuerpos anti-B se dirigen al residuo Gal adicional encontrado en la sustancia B. Los individuos de tipo O albergan una mutación de desplazamiento del marco de lectura en el gen que codifica la glucosiltransferasa terminal que da como resultado la producción de una proteína inactiva. Por tanto, la sustancia H es la sustancia del grupo sanguíneo ABO.

Un alelo *h* surge cuando una mutación en la porción del *locus* H que codifica la fucosiltransferasa produce una enzima inactiva. Mientras que los individuos del genotipo H*h* heterocigoto aún pueden sintetizar niveles adecuados de sustancia H, los individuos del genotipo homocigótico *hh* no pueden. Dado que la sustancia H es el precursor de las sustancias A y B, todas las personas portadoras del genotipo *hh* tendrán glóbulos rojos de tipo O, denominados fenotipo de Bombay (O*h*), independientemente de si expresan o no A, B o ambas glucosiltransferasa A y B terminales.

PLAQUETAS

Las plaquetas contienen mitocondrias, pero carecen de núcleo

Cuando los megacariocitos, los progenitores de los glóbulos rojos, están expuestos a la **trombopoyetina**, pueden fragmentarse y formar plaquetas (figura 53-1). Al igual que los glóbulos rojos, las plaquetas carecen de núcleo, pero a diferencia de los eritrocitos, poseen mitocondrias, lisozimas y una red tubular que forma un **sistema canalicular abierto**.

Este panal de canales aumenta la superficie de las plaquetas, que son esferoidales en reposo, lo que facilita la secreción de diversos factores endocrinos y de coagulación (véase capítulo 55). Estos factores se almacenan dentro de las plaquetas dentro de vesículas secretoras densamente empaquetadas, llamadas **gránulos densos**, que contienen Ca^{2+}, ADP y serotonina, y **gránulos** α, que contienen fibrinógeno, fibronectina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de Von Willebrand u otros factores de coagulación que se liberan al recibir un estímulo apropiado. En circunstancias normales, estas células enucleadas pequeñas (2 μm de diámetro) circulan a una densidad de 2 a 4×10^5 plaquetas por mililitro de sangre. Mientras que las plaquetas obtienen la mayor parte de su energía del metabolismo de la glucosa, sus mitocondrias les permiten generar ATP a través de la β-oxidación de los ácidos grasos. Los mecanismos por los que las plaquetas se activan para participar en la formación de un coágulo se analizan en el capítulo 55.

Los trastornos plaquetarios comprometen la hemostasia

Las anomalías en el número o función de las plaquetas pueden tener graves consecuencias fisiológicas. Por ejemplo, en el **síndrome coronario agudo**, la formación de plaquetas hiperactivas aumentadas aumenta el riesgo de formación de coágulos en la circulación, lo que se conoce como **trombosis**. La presencia de plaquetas más grandes de lo normal también se correlaciona con una mayor frecuencia de infarto de miocardio.

La **púrpura trombocitopénica inmune** es un trastorno autoinmune marcado por conteos de plaquetas deprimidos (**trombocitopenia**) causados por la generación de anticuerpos contra las propias plaquetas del paciente. Cuando las plaquetas están decoradas

con anticuerpos en su superficie, están sujetas a la eliminación de macrófagos esplénicos. En algunos casos, los autoanticuerpos plaquetarios se unirán a megacariocitos diferenciadores, deprimiendo la producción de plaquetas. La trombocitopenia también puede ocurrir cuando las personas que son homocigotas para una variante mutante de la glucoproteína IIb/IIIa en la que la leucina 33 es reemplazada por la sangre que recibe prolina de un donante que es homocigótico o heterocigótico para la forma de este antígeno plaquetario principal. La exposición a las plaquetas del donante desencadena la producción de **aloanticuerpos** que atacan no sólo a las plaquetas donadas, sino también a las plaquetas endógenas del paciente. En la **trombocitopenia aloinmune neonatal**, que afecta aproximadamente a 1 de cada 200 embarazos a término, los anticuerpos de la circulación de la madre cruzan la barrera placentaria y atacan a las plaquetas en el sistema circulatorio del feto. La trombocitopenia también puede ser inducida por medicamentos como tamoxifeno, ibuprofeno, vancomicina y muchas sulfonamidas.

Los síntomas del **síndrome urémico hemolítico**, una enfermedad de los lactantes caracterizada por insuficiencia renal progresiva, incluyen tanto trombocitopenia como anemia hemolítica. Por el contrario, el sangrado anormal asociado con la **enfermedad de Von Willebrand** es causado por un defecto genético que compromete la capacidad de las plaquetas para adherirse al endotelio, en lugar de un déficit en el número de plaquetas. Otros trastornos hemorrágicos resultantes de defectos en la adherencia plaquetaria incluyen el **síndrome de Bernard-Soulier** (deficiencia genéticamente heredada en la glucoproteína 1b) y la **trombastenia de Glanzmann** (deficiencia genéticamente heredada en el complejo de la glucoproteína IIb/IIIa).

LA TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE HA TENIDO UN IMPACTO PROFUNDO EN HEMATOLOGÍA

Las bases de las **talasemias** y de muchos **trastornos de la coagulación** (véase capítulo 55) han sido aclaradas en gran medida por investigaciones que utilizan clonación de genes y secuenciación de DNA, mientras que el estudio de oncogenes y translocaciones cromosómicas ha avanzado nuestra comprensión de las **leucemias**. Como se discutió anteriormente, la tecnología de DNA recombinante ha puesto a disposición cantidades terapéuticamente útiles de **eritropoyetina** y otros **factores de crecimiento**.

La primera condición fisiopatológica a tratar por terapia génica fue una deficiencia de **adenosina desaminasa**. Los linfocitos son en particular sensibles a los déficits en esta enzima. En 1990, el Dr. William French Anderson introdujo una nueva copia del gen, transportado en un vector retroviral, en una niña de 4 años que padecía inmunodeficiencia combinada severa (enfermedad del niño burbuja). Aunque todavía se requiere que el paciente tome medicamentos, el gen de reemplazo se ha mantenido estable hasta la edad adulta.

RESUMEN

- Las principales causas de anemia incluyen pérdida de sangre, deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B_{12}, y varios factores que causan hemólisis.
- La forma del glóbulo rojo contribuye a la eficiencia del intercambio de gases y a su capacidad de sufrir deformación al atravesar los capilares.
- La producción de glóbulos rojos y plaquetas está regulada por la eritropoyetina, la trombopoyetina y otras citoquinas.
- Los glóbulos rojos maduros, que carecen de orgánulos internos, dependen de la glucólisis para generar ATP.
- La 2,3-bisfosfoglicerato mutasa cataliza la isomerización del intermediario glucolítico 1,3-bisfosfoglicerato para formar el 2,3-bisfosfoglicerato, que estabiliza la hemoglobina del estado T.
- La metahemoglobina no puede transportar oxígeno.
- El citocromo b_5 reductasa reduce el Fe^{3+} de la metahemoglobina a Fe^{2+}, restaurando la función.
- El glóbulo rojo contiene una batería de enzimas citosólicas, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, que catalizan la neutralización de especies de oxígeno reactivo.
- Las deficiencias en la cantidad o la actividad de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa, que produce NADPH, constituyen una causa principal de anemia hemolítica.
- Las proteínas citoesqueléticas como la espectrina, la anquirina y la actina interactúan con proteínas de membrana integrales que subyacen en la forma bicóncava flexible de los glóbulos rojos.
- Las deficiencias o defectos de la espectrina pueden conducir a esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria, ambas causas de la anemia hemolítica.
- La proteína banda 4.1 facilita el intercambio de iones de bicarbonato y cloruro a través de las membranas de los eritrocitos.
- Las sustancias del grupo sanguíneo ABO de la membrana de glóbulos rojos son glucoesfingolípidos complejos. El azúcar inmunodominante de la sustancia A es N-acetilgalactosamina, mientras que la sustancia B es galactosa. La sustancia O no contiene ninguno de estos residuos de azúcar.
- Las plaquetas son pequeños fragmentos enucleados de células precursoras más grandes llamadas megacariocitos.
- Cuando se activan, las plaquetas liberan moléculas efectoras y fibrinógeno almacenado en gránulos secretores.
- La enfermedad de Von Willebrand, un trastorno hemorrágico, es causada por una mutación genética que afecta la capacidad de adherencia de las plaquetas.

REFERENCIAS

Alkrimi J, George L. *Medical Diagnosis by Analysis of Blood Cell Images*. Lambert Academic Publishing; 2014.

Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013; 3:a011601.

Israels SJ (editor). *Mechanisms in Hematology*. 4a. ed. Core Health Sciences Inc; 2011.

Martin JF, Kristensen SD, Mathur A, *et al.* The causal role of megakaryocyte platelet hyperactivity in acute coronary syndromes. *Nat Rev Cardiol* 2012;9:658.

Naria A, Ebert BL. Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood* 2010;115:3196.

Smyth SS, Whiteheart S, Italiano JE Jr, Coller BS. Platelet morphology, biochemistry, and function. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Beutler E, *et al* (eds.). *Williams Hematology*. 8a. ed. McGraw-Hill; 2010. p. 1735.

Whichard ZL, Sarkar CA, Kimmel M, Corey SJ. Hematopoiesis and its disorders: a systems biology approach. *Blood* 2010; 115:2339.

CAPÍTULO

54

Glóbulos blancos

Peter J. Kennelly, PhD y Robert K. Murray, MD, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir cómo se produce la acción combinada de los glóbulos blancos para combatir una infección y desencadenar una respuesta inflamatoria.
- Enumerar los pasos básicos de la eliminación de los microorganismos infecciosos mediante fagocitosis.
- Describir el papel de la quimiotaxis en la función leucocitaria.
- Enumerar los componentes clave que se encuentran dentro de los gránulos de fagocitos y basófilos, y describir sus funciones principales.
- Enumerar las especies reactivas de oxígeno producidas durante el estallido respiratorio.
- Explicar la base de los efectos fisiológicos causados por defectos en el sistema NADPH oxidasa.
- Explicar las bases moleculares de la deficiencia en la adhesión de leucocitos tipo 1.
- Describir cómo los neutrófilos y los eosinófilos atrapan parásitos usando trampas extracelulares de neutrófilos (NET).
- Describir el papel de las células T auxiliadoras en la producción de nuevos anticuerpos.
- Definir el término citocina y describa las características clave de las interleucinas, los interferones, las prostaglandinas y los leucotrienos.

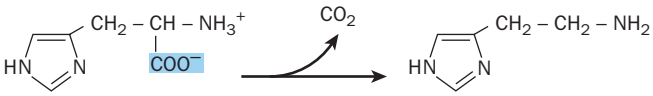
IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los glóbulos blancos o **leucocitos** sirven como centinelas clave y como potentes defensores contra los patógenos invasores. Los **neutrófilos**, el tipo más abundante de glóbulos blancos, ingieren y destruyen bacterias y hongos invasores mediante un proceso conocido como **fagocitosis**, mientras que los **eosinófilos** fagocitan a los parásitos más grandes. Los **monocitos** circulantes migran del torrente sanguíneo a los tejidos enfermos, donde se diferencian en **macrófagos** fagocíticos. Los **granulocitos** como los **basófilos** y los **mastocitos** liberan efectores almacenados, que atraen leucocitos adicionales al sitio de la infección y desencadenan una respuesta inflamatoria. Los **linfocitos B** generan y liberan anticuerpos protectores con la ayuda de los **linfocitos T**. Otros linfocitos, como las **células T citotóxicas** y las **células *Natural Killers (NK)***, se dirigen a las células hospederas de una infección por virus y las transformadas malignamente.

Las neoplasias malignas de los tejidos formadores de sangre, llamadas **leucemias**, pueden conducir a la producción incontrolada de una o más de las principales clases de glóbulos blancos. La hiperactivación de los granulocitos durante una respuesta alérgica puede, en casos extremos, provocar **anafilaxia** y muerte. La **leucopenia**, una depresión en la producción de glóbulos blancos, puede ser el resultado de una lesión física o infección de la médula ósea, quimioterapia, radiación ionizante, infección por el virus de Epstein-Barr (mononucleosis), una respuesta autoinmune (lupus) o el desplazamiento de las células de la médula ósea por los tejidos fibrosos (mielofibrosis). El déficit resultante en los niveles de leucocitos circulantes puede dejar al individuo afectado vulnerable a la infección (**inmunocomprometido**).

UNA DEFENSA CONTRA UNA INFECCIÓN REQUIERE MÚLTIPLES TIPOS DE CÉLULAS

Los glóbulos blancos o **leucocitos** son participantes clave en la **respuesta inflamatoria aguda**, un proceso multifactorial que defiende al organismo de organismos infecciosos, y mejora el impacto de la infección o morbilidad tisular. Los principales pasos en una res-



Histidina Histamina

FIGURA 54-1 **Estructuras de la histidina y su producto de descarboxilación, histamina.**

puesta inflamatoria incluyen: 1) un aumento en la permeabilidad vascular, 2) la entrada de los leucocitos activados en los tejidos, 3) la activación de las plaquetas y 4) la subsidencia espontánea (resolución), si los microorganismos invasores han sido tratados con éxito. Los **basófilos** secretan efectores hematológicos como las histaminas (**figura 54-1**), que facilitan la acumulación de líquido en los tejidos infectados o dañados, y las quimiocinas, que atraen neutrófilos adicionales. Los neutrófilos activados encapsulan a las bacterias invasoras dentro de las vesículas de membrana (**fagocitosis**) y las destruyen usando una combinación de enzimas hidrolíticas, especies de oxígeno reactivo (ROS) y péptidos antimicrobianos. Los **monocitos** circulantes son los precursores de los **macrófagos** fagocíticos, que fagocitan las células huésped infectadas y dañadas. Los **linfocitos** producen anticuerpos protectores que se dirigen a los invasores externos y los etiquetan para su eliminación.

Los leucocitos, a diferencia de los glóbulos rojos y las plaquetas, son complementados por un grupo de orgánulos internos. Sin embargo, los núcleos de muchos leucocitos exhiben marcadas desviaciones del orgánulo esférico compacto, típico de la mayoría de las células eucarióticas. En los monocitos, por ejemplo, los núcleos son inusualmente grandes y de forma notablemente irregular, mientras que, en los neutrófilos, los eosinófilos y otros leucocitos polimorfonucleares los núcleos se segmentan en múltiples lóbulos.

LOS EFECTORES MÚLTIPLES REGULAN LA PRODUCCIÓN DE LAS CÉLULAS BLANCAS DE LA SANGRE

La mayoría de los glóbulos blancos se mueven rápidamente y, por tanto, deben reemplazarse continuamente. El tiempo de vida de un leucocito mieloide circulante, por ejemplo, varía de unas pocas horas a unos pocos días, mientras que la mayoría de los linfocitos persisten durante unas pocas semanas en la sangre. Una excepción notable a este patrón son los **linfocitos de memoria**, que pueden vivir varios años. La producción de monocitos y granulocitos se produce a través de la formación de un **progenitor mieloide común**, mientras que la diferenciación de las células madre hematopoyéticas en linfocitos se produce a través de la formación de un **progenitor linfoide común** (véase la figura 53-1). La proliferación de las células madre hematopoyéticas y la determinación de su destino final están controladas por las influencias conjuntas de múltiples moléculas efectoras. El factor de crecimiento de células madre, el factor estimulante de colonias de granulocitos y de macrófagos, y las interleucinas 5 y 6, por ejemplo, estimulan la producción de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) y de monocitos, un proceso que tiene lugar mediante la formación de **células progenitoras mieloides**. El factor de necrosis tumoral α, el factor de crecimiento transformante β1 y las interleucinas 2 y 7 promueven la formación de **células progenitoras linfoides** y su eventual maduración en linfocitos B y T.

LOS LEUCOCITOS SON MÓVILES

Los leucocitos migran en respuesta a señales químicas

Los leucocitos se pueden encontrar en todo el cuerpo, migrando de la sangre a sitios de lesión o infección en respuesta a señales químicas, un proceso conocido como **quimiotaxis**. La migración fuera de la circulación tiene lugar a través de la **diapédesis**, un mecanismo ameboide que involucra la contorsión de la célula mediada por el citoesqueleto (**figura 54-2**). Un seudópodo delgado se extiende entre las células del epitelio capilar. Una vez ancladas en el otro lado, las proteínas del citoesqueleto comprimen el contenido de la célula a través de la proyección, que llena el extremo distal del pseudópodo para formar un nuevo cuerpo celular translocado, dejando atrás los restos desinflados. Una vez dentro de los tejidos, la locomoción avanza a través de un mecanismo ameboide similar, escalonado.

La quimiotaxis está mediada por receptores acoplados a proteínas G

Los leucocitos son atraídos a los tejidos por **factores quimiotácticos** como las quimiocinas, el fragmento del complemento C5a, los pép-

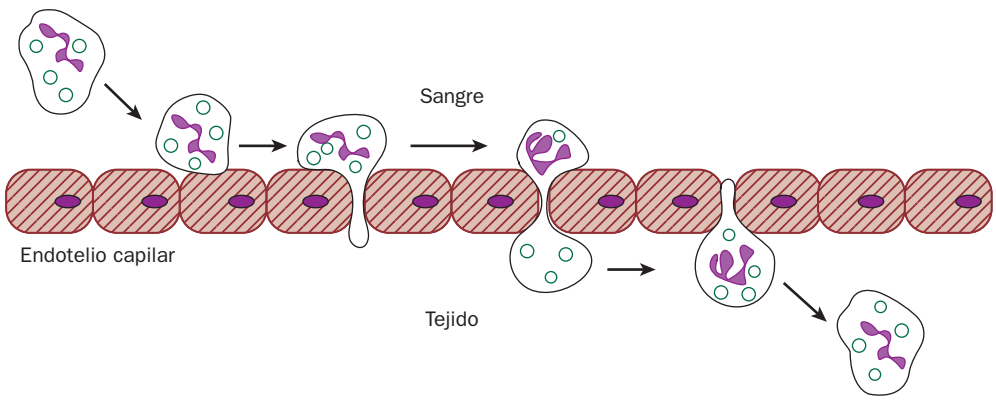


FIGURA 54-2 **Diapédesis.** De izquierda a derecha, se muestran los principales pasos de la diapédesis, el proceso mediante el cual los neutrófilos y otros leucocitos atraviesan la pared capilar, cuyas células se muestran en rojo, en respuesta a señales quimiotácticas. Los núcleos celulares se muestran en púrpura y los gránulos en verde.

tidos pequeños derivados de las bacterias (p. ej., N-formil-metionil-leucil-fenilalanina) y varios leucotrienos. Estos factores se unen a uno de varios receptores de superficie celular que comparten dominios transmembrana similares que comprenden siete hélices α que abarcan la membrana. Debido a que todos estos receptores están estrechamente relacionados con una o más proteínas heterotriméricas de unión a nucleótidos, de guanosina (**proteínas G**), a menudo se denominan receptores acoplados a proteína G. Tras la unión del ligando, se inicia una cascada de transducción de señal en la que las proteínas G activan la **fosfolipasa C**, que hidroliza fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato para producir **diacilgliceroles** y el segundo mensajero soluble en agua: **inositol 1,4,5-trifosfato** (IP_3). La aparición de IP_3 desencadena la liberación de Ca^{2+}, lo que lleva a un aumento transitorio del nivel de Ca^{2+} citoplásmico. En los neutrófilos, la aparición de Ca^{2+} citoplásmico activa los componentes del citoesqueleto de actina-miosina responsable de la migración celular y la secreción de gránulos. El diacilglicerol, junto con Ca^{2+}, estimula la proteína cinasa C e induce su translocación del citosol a la membrana plasmática, donde cataliza la **fosforilación** de varias proteínas, incluidas algunas involucradas en la activación del estallido respiratorio (ver a continuación).

Las quimiocinas se estabilizan mediante enlaces disulfuro

Las quimiocinas son proteínas pequeñas, generalmente de 6 a 10 kDa, secretadas por los glóbulos blancos activados para atraer neutrófilos adicionales a un sitio de infección o lesión. Las quimiocinas se pueden dividir en cuatro subclases, según el número y el espaciamiento de los residuos de cisteína que forman los enlaces disulfuro que estabilizan la conformación de la proteína (**figura 54-3**). Las quimiocinas de tipo C se caracterizan por un enlace disulfuro intracadena formado por un par de residuos de cisteína conservados. Además del enlace disulfuro presente en el tipo C, los otros tres grupos de quimiocinas que han sido reconocidos poseen un segundo enlace disulfuro. En las quimiocinas de tipo CC, uno de los residuos de cisteína adicionales se encuentra adyacente al primero del primer par de residuos universalmente conservados. En los tipos CXC y CX_3C, estas cisteínas están separadas por uno y tres residuos de aminoácidos intermedios, respectivamente. Las quimiocinas CX_3C, las más grande de los cuatro tipos de citocinas, tienen un extremo C más largo que incluye sitios de modificación covalente por glucosilación.

Las integrinas facilitan la diapédesis

La adhesión de los leucocitos a las células endoteliales vasculares está mediada por las glucoproteínas transmembrana de las familias de **integrina** y **selectina** (véase la discusión sobre las **selectinas** en el capítulo 46). Las integrinas consisten en asociaciones no covalentes de subunidades α y β, cada una de las cuales contiene un segmento extracelular, transmembrana, y un segmento intracelular. Los segmentos extracelulares se unen a diversas proteínas de la matriz extracelular que poseen secuencias de Arg-Gly-Asp, mientras que los dominios intracelulares se unen a componentes del citoesqueleto como la actina y la vinculina. Su capacidad para unir el exterior de una célula con su interior permite a las integrinas vincular las respuestas de los leucocitos (p. ej., movimiento y fagocitosis) con los cambios en el entorno circundante. Algunas integrinas de interés específico para los neutrófilos se enumeran en el **cuadro 54-1**.

En la **deficiencia de adhesión de leucocitos tipo 1**, la falta de la subunidad β_2 (también designada CD18) de LFA-1 y de dos integrinas relacionadas encontradas en los neutrófilos y macrófagos, Mac-1 (CD11b/CD18) y p150,95 (CD11c/CD18), afecta la capacidad de adhesión a las células endoteliales vasculares de los leucocitos, impidiendo la diapédesis. Dado que ingresan a los tejidos infectados menos glóbulos blancos, las personas con esta afección tienden a sufrir recurrentes infecciones bacterianas y fúngicas.

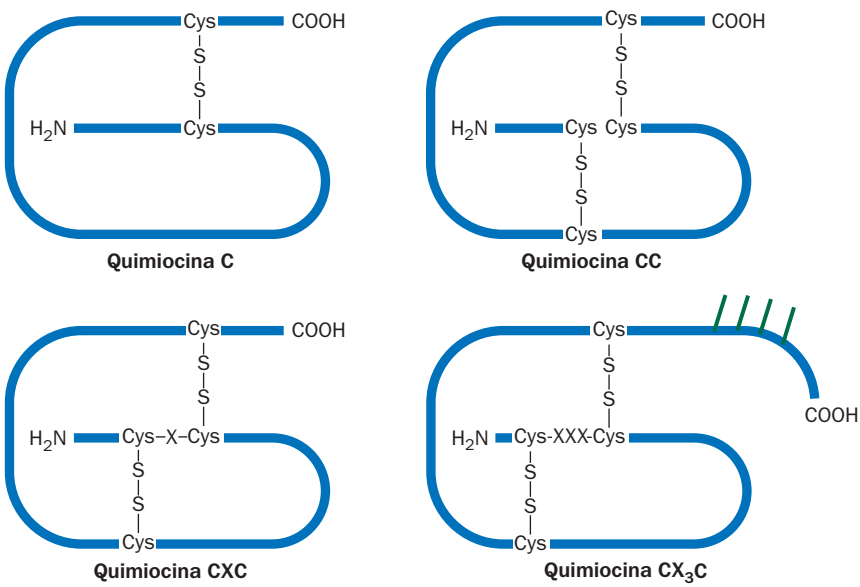


FIGURA 54-3 **Quimiocinas.** Esta figura muestra las características estructurales clave de las quimiocinas tipo C, CC, CXC y CX_3C. Las cadenas polipeptídicas se representan en azul, con sus extremos amino y carboxi marcados por H_2N y COOH, respectivamente. Los restos clave de cisteína se denominan Cys, enlaces disulfuro conservados en S-S, y aminoácidos espaciadores para los tipos CXC y CX_3C usando X. Los carbohidratos unidos se representan en verde.

CUADRO 54-1 Integrinas principales de los glóbulos blancos y de las plaquetas[a]

Integrina	Célula	Subunidad	Ligando	Función
VLA-1 (CD49a)	WBC, otros	α1β1	Colágeno, laminina	Adherencia Cell-ECM
VLA-5 (CD49e)	WBC, otros	α5β1	Fibronectina	Cell-ECM adhesión
VLA-6 (CD49f)	WBC, otros	α6β1	Laminina	Adherencia Cell-ECM
LFA-1 (CD11a)	WBC	αLβ2	ICAM-1	Adherencia de WBC
Glucoproteína IIb/IIIa	Plaquetas	αIIbβ3	ICAM-2	
Fibrinógeno, fibronectina, factor Von Willebrand	Adherencia y agregación de plaquetas			

[a] CD (*cluster of differentiation*): grupo de diferenciación; ECM (*extracellular matrix*): matriz extracelular; ICAM (*intercellular adhesion molecule*): molécula de adhesión intercelular; LFA-1 (*lymphocyte function–associated antigen 1*): antígeno 1 asociado a la función de linfocito; VLA (*very late antigen*): antígeno muy tardío.
Nota: En la deficiencia de adhesión de leucocitos tipo I (OMIM 116920) hay una deficiencia de la LFA-1 y de las integrinas relacionadas. En la trombastenia de Glazmann (OMIM 273800), una afección caracterizada por antecedentes de hemorragia, recuento plaquetario normal y retracción anormal del coágulo, se encuentra una deficiencia del complejo de glicoproteína IIb/IIIb plaquetaria. Estos hallazgos ilustran cómo el conocimiento fundamental sobre las proteínas de adhesión de la superficie celular arroja luz sobre la causalidad de una serie de enfermedades.

LOS MICROBIOS INVASORES Y LAS CÉLULAS INFECTADAS SON ELIMINADAS POR LA FAGOCITOSIS

Los fagocitos ingieren las células blanco

Los glóbulos blancos típicamente destruyen los microorganismos invasores a través de la **fagocitosis** (**figura 54-4**). Los leucocitos fagocíticos reconocen y se unen a las células blanco usando receptores que reconocen lipopolisacáridos bacterianos o peptidoglucanos. En la mayoría de los casos, sin embargo, los patógenos infecciosos son reconocidos indirectamente, por la presencia de anticuerpos o factores del complemento que se han adherido previamente a su superficie (véase el capítulo 52). El proceso de etiquetar a un invasor con proteínas protectoras para el huésped para facilitar el reconocimiento por los leucocitos fagocíticos se denomina **opsonización**.

La unión del receptor desencadena alteraciones dramáticas en la forma del fagocito, que procede a envolver a la célula objetivo hasta que se recubre dentro de una vesícula de membrana internalizada llamada **fagosoma** (fagolisosoma). El invasor encapsulado se destruye usando una combinación de enzimas hidrolíticas (p. ej., lisozima, proteasas), péptidos antimicrobianos (defensinas) y especies reactivas de oxígeno. Estas enzimas y toxinas se almacenan en las vesículas citoplásmicas conocidas como **gránulos**, que luego se fusionan con el fagosoma (cuadro 54-2). Dado que estos gránulos se pueden observar bajo un microscopio, las células que los albergan se denominan granulocitos. Finalmente, después de la digestión del invasor microbiano y la absorción de sus azúcares componentes, aminoácidos, etc., el fagosoma migra a la membrana plasmática del glóbulo blanco, donde se fusiona y expulsa los restos restantes.

Los componentes de estos residuos, que incluyen fragmentos de proteínas, oligosacáridos, lipopolisacáridos, peptidoglicanos y polinucleótidos, proporcionan una importante fuente de antígenos para estimular la producción de nuevos anticuerpos. Las **células T Helper** y otros leucocitos absorben estos materiales a través de la endocitosis (véase la figura 40-21), luego los encaminan a la superficie de la célula asociados a una proteína de membrana llamada **complejo de histocompatibilidad mayor** (**MHC,** *major histocompabilituy complex*). El MHC sirve como andamio para presentar antígenos potenciales a los linfocitos circundantes en una forma que probablemente estimule la producción de nuevos anticuerpos.

Las tres clases principales de leucocitos fagocíticos son los **neutrófilos**, los **eosinófilos** y los **macrófagos**. Los neutrófilos, que comprenden aproximadamente 60% de los glóbulos blancos pre-

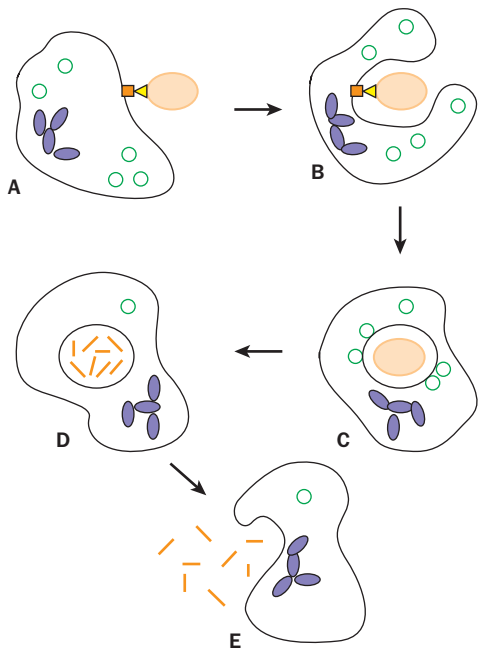


FIGURA 54-4 Fagocitosis. Esta figura representa la destrucción de un microorganismo opsonizado, sombreado en NARANJA, por un neutrófilo, a través de la fagocitosis. El núcleo multilobulado del neutrófilo se muestra en gránulos purpúreos y los secretores, en verde. La presencia de un anticuerpo o etiqueta de complemento se indica mediante un triángulo amarillo, con el receptor de la superficie celular correspondiente como un cuadrado naranja brillante. Los restos celulares del microorganismo se representan con segmentos de líneas anaranjadas. **A)** El neutrófilo se une a una molécula de antígeno en el microbio opsonizado a través de un receptor. **B)** El neutrófilo envuelve al microbio. **C)** Los gránulos secretores se fusionan con el fagosoma recién internalizado, y entregan sus contenidos. **D)** Las enzimas derivadas de gránulos y las citotoxinas destruyen el microorganismo. **E)** El fagosoma luego se fusiona con la membrana celular, y expulsa los restos.

CUADRO 54-2 Enzimas y proteínas de los gránulos de leucocitos fagocíticos

Enzima o proteína	Reacción catalizada o función	Comentario
Mieloperoxidasa (MPO)	$H_2O_2 + X^-$ (haluro) $+ H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ donde $X^- = Cl^-$, HOX = ácido hipocloroso	Es responsable del color verde del pus Su deficiencia genética puede causar infecciones recurrentes.
NADPH oxidasa	$2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{\cdot-} + NADP + H^+$	Componente clave del estallido respiratorio Deficiente en la enfermedad granulomatosa crónica
Lisozima	Los hidrolizados unen el ácido N-acetilmurámico y la *N*-acetil-D-glucosamina encontrados en ciertas paredes celulares bacterianas	Abundante en los macrófagos. Hidroliza peptidoglicanos bacterianos
Defensinas	Péptidos antibióticos básicos de 20-33 aminoácidos	Aparentemente mata las bacterias causando daño a la membrana
Lactoferrina	Proteína de unión al hierro	Puede inhibir el crecimiento de ciertas bacterias uniendo hierro y puede estar involucrado en la regulación de la proliferación de células mieloides
Elastasa Colagenasa Gelatinasa Catepsina G	Proteasas	Abundante en fagocitos; Desglose de los componentes proteicos de los organismos infecciosos; Generar fragmentos para la presentación del antígeno

sentes en la circulación, fagocitan bacterias y microorganismos eucariotas pequeños como los hongos. Los eosinófilos menos numerosos, que constituyen de 2 a 3% de los leucocitos en la sangre, ingieren microorganismos eucarióticos más grandes, como los paramecios. Los macrófagos se derivan de monocitos, que comprenden aproximadamente 5% de los leucocitos en la sangre. Los monocitos migran del torrente sanguíneo a los tejidos de todo el cuerpo donde, al recibir un estímulo, se diferencian para formar **macrófagos**. Mientras que los macrófagos pueden ingerir microbios invasores, la función distintiva de estos grandes fagocitos es destruir las células humanas que se han visto comprometidas por infección, transformación maligna o muerte celular programada, también conocida como **apoptosis**. Estas células funcionalmente comprometidas se reconocen por la aparición de proteínas aberrantes y de oligosacáridos en su superficie. La activación precoz de los macrófagos se asocia con la etiología de muchas enfermedades degenerativas como la osteoporosis, la aterosclerosis, la artritis y la fibrosis quística. También pueden facilitar la metástasis de las células cancerosas.

Los leucocitos fagocíticos generan especies reactivas de oxígeno durante el estallido respiratorio

Los fagocitos emplean **ROS** como $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2, $OH^{\cdot}$ y HOCl (ácido hipocloroso) como un componente principal del arsenal químico y enzimático utilizado para destruir las células ingeridas. La producción de los diversos ROS ocurre en breve tiempo (15-60 segundos) después de la internalización de una célula encapsulada, utilizando O_2 y electrones derivados de NADPH. La oleada acompañante en el consumo de oxígeno se ha denominado **estallido respiratorio**. Producir por la vía de la pentosa fosfato las grandes cantidades requeridas de NADPH (véase el capítulo 20), es facilitado por la generación de ATP durante la glucólisis aeróbica, un proceso del cual dependen los fagocitos dado su bajo número de mitocondrias.

El primer paso en la formación de ROS microbicidas durante el estallido respiratorio es la síntesis de superóxido, que es catalizado por el **sistema NADPH oxidasa**. La catálisis procede a través de un mecanismo de dos pasos, la reducción del oxígeno molecular para formar superóxido (cuadro 54-2):

$$2O_2 + NADPH + H + \rightarrow 2O_2^{\cdot-} + NADP^+ + H$$

seguido por la dismutación espontánea del **peróxido de hidrógeno** de dos moléculas de superóxido:

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

El sistema NADPH oxidasa está compuesto por el **citocromo b_{558}**, un heterodímero asociado a la membrana plasmática, y dos polipéptidos citoplásmicos de 47 y 67 kDa, respectivamente. Tras la activación, los péptidos citoplásmicos se reclutan a la membrana plasmática donde se asocian con el citocromo b_{558} para formar el complejo activo. El flujo a través del ciclo de la pentosa fosfato, la principal fuente de NADPH en la célula, también aumenta marcadamente durante la fagocitosis. La célula está protegida de cualquier superóxido que pueda escapar de los fagosomas por la **superóxido dismutasa**, que cataliza la transformación de dos aniones radicales superóxido en H_2O_2 y O_2. El peróxido de hidrógeno se puede usar como sustrato para la mieloperoxidasa (véase a continuación) o eliminarse por la acción de la glutatión peroxidasa o la catalasa.

La mieloperoxidasa cataliza la producción de oxidantes clorados

La formación de ácidos hipohalosos durante el estallido respiratorio es catalizada por la enzima mieloperoxidasa.

$$H_2O_2 + X^- + H^+ \xrightarrow{\text{MIELOPEROXIDASA}} HOX + H_2O$$

($X^- = Cl^-$, Br^-, I^- o SCN^-; HOX = ácido hipohaloso)

Presente en grandes cantidades en los gránulos de neutrófilos, esta enzima utiliza H_2O_2 y para oxidar Cl^- y otros haluros para producir HOCl y otros ácidos hipohalosos. El **HOCl**, el ingrediente

activo del blanqueador líquido doméstico, es un poderoso oxidante altamente microbicida. Cuando se usa para esterilizar heridas, reacciona con aminas primarias o secundarias presentes para producir diversos derivados de nitrógeno y cloro. Estas cloraminas son oxidantes menos potentes que el HOCl, lo que les permite actuar como agentes microbicidas sin causar daños al tejido circundante.

Las mutaciones que afectan al sistema NADPH oxidasa causan enfermedad granulomatosa crónica

Las mutaciones funcionalmente mortales en los genes que codifican cualquiera de los cuatro polipéptidos del sistema de NADPH oxidasa pueden causar enfermedad granulomatosa crónica. El deterioro resultante de la producción de ROS socava la capacidad de los leucocitos fagocíticos de matar los patógenos ingeridos. Aunque es relativamente poco común, las personas que padecen esta afección experimentan infecciones recurrentes. También forman granulomas (lesiones inflamatorias crónicas) en la piel, los pulmones y los ganglios linfáticos como un medio para aislar a los patógenos invasores. En algunos casos, puede proporcionarse alivio mediante la administración de interferón gamma, que puede aumentar la transcripción del componente de 91 kDa del citocromo b_{558}.

LOS NEUTRÓFILOS Y LOS EOSINÓFILOS EMPLEAN REDES PARA ATRAPAR PARÁSITOS

Además de ingerir por fagocitosis a microorganismos pequeños como LAS bacterias, los neutrófilos y los eosinófilos pueden ayudar a eliminar invasores más grandes atrapándolos dentro de redes llamadas **trampas extracelulares de neutrófilos o NET,** ***neutrophil extracelular traps*** (**figura 54-5**). Las cadenas para estos NET están compuestas por cadenas de polinucleótidos generadas por la dispersión o **descondensación** del DNA cromosómico de un neutrófilo. Este proceso implica la ruptura de la membrana nuclear y la alteración de las interacciones entre carga y carga favorables que normalmente estabilizan la cromatina. La enzima **peptidilarginina deiminasa** promueve la disolución de los complejos histona-polinucleótido, que cataliza la deiminación de las cadenas laterales fuertemente básicas de los residuos de arginina para formar residuos neutros de citrulina (**figura 54-6**). Algunas proteínas de la cromatina permanecen asociadas con el DNA, formando enlaces cruzados entre las cadenas de polinucleótidos. Las membranas de los gránulos también se rompen en este momento, liberando sus contenidos en el citoplasma, donde se pueden unir a las hebras de polinucleótidos productos del descondensamiento, decorando el DNA con proteasas derivadas de los gránulos, péptidos antimicrobianos y otros factores. Finalmente, los neutrófilos se lisan, desatando sus NET sobre los parásitos invasores la cual permite inmovilizarlos e impedir su propagación.

LAS PROTEASAS DERIVADAS DE LOS FAGOCITOS PUEDEN DAÑAR CELULAS SANAS

Los macrófagos y otros fagocitos producen numerosas proteasas (cuadro 54-2), varias de las cuales pueden hidrolizar la elastina,

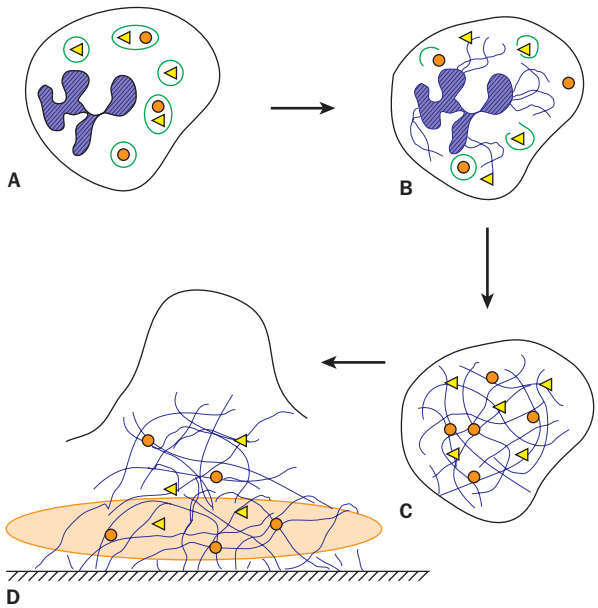


FIGURA 54-5 Atrapando parásitos usando NET. La figura representa las etapas básicas en la formación y despliegue de una red basada en DNA por un neutrófilo o eosinófilos para atrapar un microorganismo parásito. **A)** Neutrófilos en reposo. El núcleo multilobulado se muestra en gránulos purpúreos, intracelulares en verde, y las enzimas granulares y las citotoxinas en forma de círculos anaranjados y triángulos amarillos. **B)** Tras la estimulación, las membranas que recubren el núcleo y los gránulos se rompen, liberando enzimas, citotoxinas y hebras de DNA (púrpura) de los cromosomas de descondensamiento. **C)** Las hebras de DNA forman una malla que llena el interior de la célula a la que se adhieren algunas proteínas derivadas de gránulos. **D)** La lisis de neutrófilos, liberando su banda de DNA-proteína, que atrapa al parásito (naranja) contra la superficie del epitelio (sombreado).

varios tipos de colágeno y otras proteínas presentes en la matriz extracelular. Aunque pequeñas cantidades de elastasa y otras proteinasas se filtran a los tejidos normales, sus actividades normalmente se mantienen controladas por una cantidad de antiproteinasas presentes en el plasma y el fluido extracelular (véase capítulo 52).

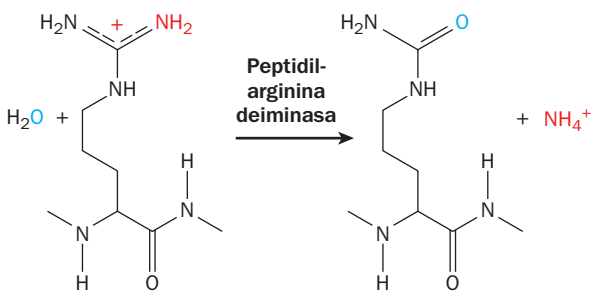


FIGURA 54-6 Citrulinación. La enzima peptidil arginina deiminasa desplaza a uno de los grupos imino (rojo) en la cadena lateral de la arginina, por un átomo de oxígeno (azul) derivado del agua. El resultado neto es el reemplazo de una carga positiva proporcionada por la cadena lateral de arginina protonada por una amida, que es neutra.

Una de estas, la **α_2-macroglobulina**, forma un complejo no covalente con ciertas proteinasas, inhibiendo así su actividad. Un defecto genético que permite que la elastasa actúe sobre el tejido pulmonar sin control por inhibidores de la proteolisis, como el inhibidor de la α_1-antiproteinasa (α_1-antitripsina), contribuye significativamente a la causalidad del enfisema.

Los niveles elevados de oxidantes clorados formados durante la inflamación pueden inclinar el equilibrio entre las proteinasas y las antiproteinasas a favor de la primera. Por ejemplo, algunas de las proteinasas listadas en el cuadro 54-2 son **activadas** por HOCl, mientras que varias de las antiproteinasas compensatorias son inactivadas por este mismo ácido hipohaloso. Además, estas proteínas inhibitorias pueden ser degradadas por proteasas. Por ejemplo, el inhibidor tisular de las metaloproteinasas y la α_1-antiquimotripsina se puede hidrolizar mediante elastasa, mientras que el inhibidor de la α_1-antiproteinasa se puede hidrolizar mediante la colagenasa y la gelatinasa. Si bien en general se mantiene un equilibrio apropiado entre las proteinasas y las antiproteinasas, en ciertos casos, como cuando el drenaje inadecuado conduce a la acumulación de un gran número de neutrófilos, se puede producir un daño considerable en los tejidos.

LOS LEUCOCITOS SE COMUNICAN A TRAVÉS DE EFECTORES SECRETOS

El desarrollo de respuestas inmunes e inflamatorias por parte de tejidos lesionados o infectados requiere la acción coordinada de leucocitos y otras células. Gran parte de esta coordinación se logra secretando un conjunto diverso de proteínas pequeñas (<25 kDa), denominadas **citocinas**, que incluyen interleucinas, interferones y quimiocinas.

Los nombres de las más de tres docenas de interleucinas conocidas se derivan del de las células en las que se sintetizan y del de las células que las secretan. En general, se designan con la abreviatura de clase IL, seguida de un número de identificación, por ejemplo, IL1, IL3, IL22. Los **interferones** (**IFN**), por otro lado, derivan su nombre de su capacidad para inhibir o interferir en la replicación de virus infectantes. Hasta la fecha se han identificado aproximadamente 10 familias distintas de interferones en animales. Las quimiocinas atraen y activan la migración de los leucocitos a un sitio de lesión o infección. La mayoría de las citocinas están glucosiladas. En general, estimulan tanto a los leucocitos de los que se secretan (**señalización autocrina**) como a otros tipos de leucocitos (**señalización paracrina**). Históricamente, las citocinas se han distinguido de las hormonas por su estrecha asociación con la inmunidad y la inflamación.

Los leucocitos también secretan mediadores lipídicos, llamados **eicosanoides**, producidos por la oxidación del ácido araquidónico (véase capítulo 15). Estos mediadores lipídicos se dividen en dos grandes clases: **leucotrienos** y **prostaglandinas**. Los leucotrienos se caracterizan por la presencia de un conjunto de tres dobles enlaces carbono-carbono conjugados. Varios incorporan el aminoácido cisteína en su estructura. Las prostaglandinas, que se aislaron por primera vez de la glándula prostática, contienen 20 átomos de carbono y se distinguen por su anillo común de cinco miembros.

La **histamina** (**figura 54-1**), que se sintetiza mediante la descarboxilación del aminoácido histidina, es secretada en grandes cantidades por los **basófilos** y por los **mastocitos activados**. La histamina funciona con otros factores hematológicos, como la heparina y los eicosanoides, para mantener el flujo sanguíneo al sitio de la lesión o infección, y estimular la acumulación de líquido (edema). La inflamación resultante mejora la respuesta inmune a medida que el fluido acumulado facilita la migración de leucocitos.

LOS LINFOCITOS PRODUCEN ANTICUERPOS PROTECTORES

Los **linfocitos** constituyen aproximadamente 30% de los leucocitos presentes en la sangre. En virtud de su capacidad para producir nuevos anticuerpos protectores contra los antígenos recién descubiertos (véase el capítulo 53), los linfocitos forman la piedra angular del **sistema inmune adaptativo** del cuerpo. La clasificación de los linfocitos en los tipos B y T originalmente se basaba en la identidad de los tejidos en los que cada forma completaba su maduración. En las especies aviarias, los linfocitos B (células B) se procesan en la **bolsa de Fabricio**. Las células B en humanos, que carecen de este órgano, maduran en la médula ósea. La maduración de los **linfocitos T** (**células T**) tiene lugar en el **timo**. Los linfocitos B secretan los anticuerpos solubles presentes en los humores corporales, por ejemplo, el plasma y los fluidos intersticiales, y se dice que confieren **inmunidad humoral**.

Se dice que los linfocitos que aún no se han estimulado para producir inmunoglobulinas son **naives**. La síntesis de un nuevo anticuerpo puede ser desencadenada por varios mecanismos. Los linfocitos se pueden unir directamente a los invasores externos a través de uno de los muchos receptores presentes en su superficie y configurados para unir glucoproteínas bacterianas, lipopolisacáridos o peptidoglucanos. Alternativamente, el linfocito se puede activar si encuentra un antígeno asociado con el complejo mayor de histocompatibilidad en la superficie de otro glóbulo blanco. Los macrófagos, los neutrófilos y los linfocitos fagocíticos llamados células plasmáticas exhiben o presentan fragmentos de macromoléculas que han destruido por fagocitosis. Además, las **células T Helper** presentan antígenos en su superficie, incluidos los restos expulsados por los fagocitos, que han sido ingeridos por endocitosis. Las células T Helper también sirven como "tableros celulares", coordinando la respuesta inmune al recibir, procesar y enviar señales desde y hacia otros componentes del sistema inmune.

Las **células T citotóxicas** reconocen a las proteínas que aparecen en la superficie de las células huésped como consecuencia de una infección viral o de una transformación oncogénica. Una vez unidas, inducen la lisis de la célula blanco utilizando perforinas, proteínas que forman canales en la membrana plasmática, y proteasas llamadas granzimas, que imitan la acción de las proteasas de catepsina que normalmente desencadenan la muerte celular programada (**apoptosis**). Las **células NK** se parecen a las células T citotóxicas, pero contienen gránulos con sustancias químicas tóxicas adicionales que colaboran en su ataque.

RESUMEN

- La eliminación de microorganismos infecciosos implica las acciones acumulativas de múltiples tipos de leucocitos, incluidos los linfocitos, los fagocitos y los basófilos.
- Los glóbulos blancos se comunican usando moléculas efectoras secretadas como las quimiocinas, las prostaglandinas, los leucotrienos, las interleucinas y los interferones.
- Los leucocitos migran de la sangre a los tejidos atraídos por químicos específicos. Este proceso se denomina quimiotaxis.

- La migración ameboide de los leucocitos de la sangre a los tejidos se basa en la flexibilidad y la deformación celular mediada por el citoesqueleto.
- Los basófilos secretan histamina y heparina, que facilitan la migración de los leucocitos al inducir la acumulación de líquido en un sitio de infección o lesión.
- Las integrinas median la adhesión de los glóbulos blancos al endotelio vascular, que es el primer paso en la migración hacia los tejidos infectados.
- Los fagocitos internalizan los microorganismos invasores dentro de vesículas de membrana llamadas fagosomas.
- La destrucción de los microorganismos fagocitados se logra usando una combinación de especies de oxígeno reactivo (estallido respiratorio), enzimas hidrolíticas y péptidos citotóxicos.
- Las mutaciones en las proteínas del sistema NADPH oxidasa causan la enfermedad granulomatosa crónica.
- Los neutrófilos y los eosinófilos se defienden de los parásitos grandes inmovilizándolos dentro de las redes formadas por cadenas de DNA cromosómico.
- La descondensación del DNA cromosómico se ve facilitada por la citrulinación de las cadenas laterales de arginina de las histonas.
- Los linfocitos producen inmunoglobulinas protectoras (anticuerpos) que confieren inmunidad humoral.
- Los fagocitos y las células T Helper estimulan la producción de nuevos anticuerpos presentando fragmentos de macromoléculas derivadas de patógenos en su superficie.
- Las células T citotóxicas y las células NK reconocen y destruyen las células del huésped que muestran las proteínas de la superficie celular y los glucolípidos característicos de la infección viral o transformación maligna.

REFERENCIAS

Adkis M, Burgler S, Crameri R, *et al*. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-γ: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:701.

Gulati G, Caro J. *Blood Cells: Morphology and Clinical Relevance*. 2nd ed. American Society of Clinical Oncology; 2014.

Henderson GI. *Leukocytes: Biology, Classification and Role in Disease*. Novoc Sci Publ; 2012.

Hillman R, Ault K, Rinder. *Hematology in Clinical Practice*. 5th ed. McGraw-Hill; 2010.

Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014;9:181.

Nordenfelt P, Tapper H. Phagosome dynamics during phagocytosis by neutrophils. *J Leukocyte Biol* 2011;90:271.

Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage development in development, homeostasis and disease. *Nature* 2013;496:445.

Preguntas del examen

Sección X. Temas especiales (B)

1. Describa brevemente el modo de acción de la nitroglicerina, un agente común para tratar la angina de pecho.
2. Los pacientes que reciben tratamiento para la insuficiencia cardiaca a menudo exhiben una expresión disminuida y una regulación defectuosa de SERCA2a, la principal Ca^{2+}-ATPasa del retículo sarcoplásmico. Explique cómo los defectos en esta proteína pueden contribuir al deterioro de la función cardiaca.
3. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. El sistema de troponina regula la contracción del músculo liso.
   B. La contracción muscular tiene lugar a través de un mecanismo de filamento deslizante.
   C. La cadena ligera de la miosina fosforila las cadenas ligeras reguladoras en el dominio de la cabeza de miosina.
   D. La F-actina se forma mediante la polimerización de G-actina.
   E. Ca^{2+} activa la contracción muscular y estimula su propia eliminación mediante la activación de la Ca^{2+} ATPasa.
4. Un paciente anestesiado usando un compuesto de halotano exhibe un marcado aumento en la temperatura corporal, un comportamiento indicativo de hipertermia maligna (HT). Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. La MH puede surgir de mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos de la Na^+-K^+-ATPasa.
   B. La MH puede surgir a partir de mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos del canal de liberación de Ca^{2+} sensible a la rianodina.
   C. La rigidez muscular que se produce durante la MH se desencadena por la presencia de altas concentraciones de Ca^{2+} en el citoplasma.
   D. La MH puede surgir a partir de mutaciones que alteran la secuencia de aminoácidos del canal de Ca^{2+} lento de tipo K de activado por voltaje.
   E. La HM puede tratarse por administración intravenosa de dantroleno, que inhibe la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico hacia el citosol.
5. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. Las fibras de contracción rápida dependen en gran medida del fosfato de creatina para regenerar el ATP.
   B. Las fibras de contracción lenta aparecen rojas porque contienen hemoglobina.
   C. Las fibras de contracción rápida contienen relativamente pocas mitocondrias.
   D. Los maratonistas intentan aumentar la cantidad de glucógeno en sus músculos comiendo comidas ricas en carbohidratos antes de un evento (carga de carbohidratos).
   E. El músculo esquelético sirve como la mayor reserva de proteína del cuerpo.
6. Seleccione entre las siguientes opciones LA QUE NO ES una característica del ciclo contráctil en el músculo estriado:
   A. La unión de Ca^{2+} a troponina C descubre los sitios de unión a miosina en la actina.
   B. El golpe de poder se inicia por la liberación de P_i del complejo actina-miosina-ADP-P_i.
   C. La liberación de ADP del complejo actina-miosina-ADP va acompañada de un gran cambio en la conformación del dominio de la cabeza de la miosina (en relación con su dominio de la cola).
   D. La unión del ATP por la miosina aumenta su afinidad por la actina.
   E. El *rigor mortis* es resultado de la incapacidad de la actina para liberarse del complejo actina-miosina cuando las células son deficientes en ATP.
7. Seleccione entre las siguientes opciones la que NO sirve como una importante reserva de energía para reponer el ATP en el tejido muscular.
   A. Glucógeno
   B. Fosfato de creatina
   C. ADP (junto con adenilil cinasa)
   D. Ácidos grasos
   E. adrenalina
8. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. Los medicamentos colchicina y vinblastina inhiben el ensamble de microtúbulos.
   B. Las mutaciones que afectan a la queratina pueden provocar ampollas.
   C. Las mutaciones en el gen que codifica la lámina A y la lámina C causan progeria (envejecimiento acelerado).
   D. La α- y β-tubulina son los principales componentes de las fibras de estrés.
   E. Los motores moleculares como dineína, cinesia y dinamina potencian el movimiento ciliar, el transporte de vesículas y la endocitosis.
9. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. La principal función de los canales de Ca^{2+} en los cardiomiocitos es admitir en la célula iones de calcio extracelulares con el fin de desencadenar la liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} a partir de la SR.
   B. Los digitálicos aumentan la contundencia de las contracciones cardiacas al elevar el nivel de Na^+ intracelular.
   C. Ciertos tipos de distrofias musculares son causadas por mutaciones en las enzimas llamadas glucosiltransferasas.
   D. El dantrolene relaja el músculo esquelético al inhibir la liberación de Ca^{2+} de la SR.
   E. En el SR, el Ca^{2+} se une a una proteína específica de unión al Ca^{2+} llamada calmodulina.
10. Describa el papel de la haptoglobina en la protección de los riñones contra los efectos potencialmente dañinos de la hemoglobina extracorpuscular.
11. Describa brevemente cómo la activación de la citidina desaminasa ayuda a generar inmunoglobulinas con sitios únicos de unión a antígeno.
12. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. La interleucina 1 estimula la producción de proteínas de fase aguda.
   B. El hierro debe reducirse al estado ferroso (Fe^{2+}) para recuperarse mediante el ciclo de transferrina.
   C. Muchas proteínas del complemento son zimógenos.
   D. El receptor de transferrina tipo 2 (TfR2) funciona principalmente como un sensor de hierro.
   E. La lectina de unión a la manosa se une a los grupos carbohidratos presentes en la superficie de las bacterias invasoras.
13. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
   A. La albúmina se sintetiza como una proproteína.

B. La albúmina se estabiliza mediante múltiples enlaces disulfuro intracatenarios.
C. La albúmina es una glucoproteína.
D. La albúmina facilita el movimiento de los ácidos grasos a través de la circulación.
E. La albúmina es el principal determinante de la presión osmótica plasmática.

14. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. La enfermedad de Wilson se puede tratar usando quelantes de cobre como la penicilamina.
B. La enfermedad de Wilson se caracteriza por la toxicosis por cobre (niveles anormalmente altos de cobre).
C. La enfermedad de Wilson es causada por mutaciones en el gen que codifica la ceruloplasmina.
D. La albúmina facilita el movimiento de las sulfonamidas a través de la circulación.
E. La albúmina puede perderse en el cuerpo, si la mucosa intestinal se inflama.

15. Encuentra a una mujer de 50 años en la clínica que está pálida y cansada. Sospecha que padece anemia por deficiencia de hierro y prescribe una serie de pruebas de laboratorio. Seleccione uno de los siguientes resultados de prueba potenciales que NO concuerden con su diagnóstico provisional:
A. Niveles de protoporfirina de glóbulos rojos más bajos de lo normal.
B. Incremento de la saturación de la transferrina.
C. Mayor expresión de TfR.
D. Aumento de los niveles de hepcidina en el plasma.
E. Disminución de los niveles de hemoglobina.

16. Seleccione de entre las siguientes opciones la que NO es una posible causa de amiloidosis:
A. Acumulación de β_2-macroglobulina.
B. Deposición de fragmentos derivados de cadenas ligeras de inmunoglobulina.
C. Acumulación de productos de degradación de amiloide sérico A.
D. Presencia de formas alteradas mutacionalmente de transtirretina.
E. Deficiencia de amilasa.

17. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. Todas las inmunoglobulinas contienen al menos dos polipéptidos de cadena pesada y dos polipéptidos de cadena ligera.
B. Las cadenas polipeptídicas de la inmunoglobulina están unidas mediante enlaces disulfuro.
C. Las inmunoglobulinas son multivalentes.
D. Las inmunoglobulinas están glucosiladas.
E. Las inmunoglobulinas son componentes primarios del sistema inmune innato del cuerpo.

18. Explicar el vínculo de cómo una deficiencia en la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa dentro de los eritrocitos puede conducir a la anemia hemolítica.

19. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. La gran área de superficie de los glóbulos rojos bicóncavos facilita el intercambio de gases.
B. La eliptocitosis hereditaria puede ser causada por defectos o por una deficiencia de espectrina.
C. El diámetro de los glóbulos rojos excede el diámetro de muchos capilares periféricos.
D. La proteína 4.1 ayuda a unir el citoesqueleto de los eritrocitos a las proteínas en la membrana plasmática de la célula.
E. Para pasar a través de capilares angostos, los glóbulos rojos se deben deformar en una forma compacta y esférica.

20. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. Los glóbulos rojos contienen altos niveles de superóxido dismutasa.
B. Las sustancias A y B se forman mediante la adición de fucosa y N-acetilglucosamina, respectivamente, a la sustancia H.
C. Las plaquetas generan ATP exclusivamente a través de la glucólisis.
D. Los glóbulos rojos maduros carecen de organelos internos.
E. Las membranas de los eritrocitos contienen altos niveles de la proteína de intercambio aniónico Band 3.

21. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. La eritropoyetina estimula la formación de glóbulos rojos a partir de células madre hematopoyéticas.
B. Las células madre multipotentes pueden diferenciarse en células de un tipo estrechamente relacionado.
C. La anhidrasa carbónica aumenta la capacidad de los glóbulos rojos de transportar CO_2.
D. La GLUT1 media el transporte activo de glucosa a los eritrocitos.
E. La hipoxia estimula la producción de eritropoyetina por los riñones.

22. Un paciente recientemente expuesto a la anilina muestra una decoloración azulada de su piel y las membranas mucosas. Seleccione un diagnóstico provisional plausible de la siguiente lista:
A. Metahemoglobinemia
B. Hemocromatosis hereditaria
C. Síndrome 5q
D. Púrpura trombocitopénica inmunologica
E. Trombastenia de Glanzmann

23. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. La acumulación de líquido en un sitio de infección (edema) facilita la migración de leucocitos.
B. La deficiencia de adhesión leucocitaria tipo 1 es causada por la falta de la subunidad β_2, una integrina designada como LFA-1.
C. Los componentes de la cascada del complemento circulan a través del plasma como zimógenos inactivos.
D. Los leucocitos se reclutan en un sitio de infección por quimiotaxis hacia las fuentes de adrenalina.
E. Los neutrófilos pueden atrapar patógenos grandes en NET construidos, en parte, a partir de cadenas de DNA cromosómico.

24. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. Las interleucinas son mediadores clave en la producción de leucocitos.
B. Los linfocitos producen anticuerpos protectores.
C. Los monocitos se pueden encontrar en los tejidos de todo el cuerpo.
D. El factor hematológico histamina se sintetiza por la desaminación del aminoácido histidina.
E. El término polimorfonuclear se refiere a los leucocitos que poseen un núcleo segmentado.

25. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:

A. Los fagocitos destruyen las bacterias ingeridas utilizando especies reactivas de oxígeno y enzimas hidrolíticas.
B. La enfermedad granulomatosa crónica es causada por una deficiencia en la actividad de la mieloperoxidasa.
C. NADPH sirve como la principal fuente de electrones para generar ROS durante el estallido oxidativo.
D. Los neutrófilos ayudan en la eliminación de algunos parásitos atrapándolos en NET formados a partir de su DNA cromosómico.
E. Las quimiocinas se estabilizan mediante la formación de enlaces disulfuro intracatenarios.

26. Seleccione entre las siguientes afirmaciones LA QUE NO ES CORRECTA:
A. Los leucocitos activados secretan mediadores lipídicos llamados interferones.
B. Los neutrófilos facilitan la producción de anticuerpos protectores al presentar fragmentos de microbios fagocitados en su superficie en asociación con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).
C. Las células T citotóxicas usan perforinas para lisar las células infectadas.
D. Los anticuerpos solubles se liberan en el plasma principalmente por los linfocitos B.
E. El enfisema puede surgir de la acción de la elastasa y otras proteasas derivadas de gránulos en el tejido pulmonar.

27. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. La gran mayoría de las proteínas mitocondriales son codificadas por el genoma nuclear.
B. Las proteínas Ran, como las proteínas ARF y Ras, son GTPasas monoméricas.
C. Una de las causas de la enfermedad de Refsum son las mutaciones en los genes que codifican las proteínas peroxisomales.
D. Las proteínas peroxisomales se sintetizan en polirribosomas citosólicos.
E. La importación de proteínas a las mitocondrias involucra proteínas conocidas como importinas.

28. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. Los péptidos señal *N*-terminales que dirigen proteínas nacientes a la membrana ER contienen una secuencia hidrófoba.
B. La translocación postraduccional de proteínas al ER no ocurre en especies de mamíferos.
C. El SRP contiene una especie de RNA.
D. La N-glucosilación es catalizada por oligosacárido: proteína transferasa.
E. Las proteínas de membrana de tipo I tienen sus extremos N frente al lumen del ER.

29. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. Los chaperones a menudo exhiben actividad de ATPasa.
B. La proteína disulfuro isomerasa y peptidil prolil isomerasa son enzimas involucradas en ayudar a las proteínas a plegarse adecuadamente.
C. La ubiquitina es una pequeña proteína involucrada en la degradación de proteínas por los lisosomas.
D. Las mitocondrias contienen chaperones.
E. La retrotranslocación a través de la membrana ER está involucrada en ayudar a eliminar las proteínas mal plegadas.

30. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. Rab es una pequeña GTPasa involucrada en la selección de vesículas.
B. Las vesículas COPII están involucradas en el transporte anterógrado de la carga desde el RE al aparato ERGIC o aparato de Golgi.
C. Brefeldin A previene la unión de GTP a ARF, por tanto, inhibe la formación de vesículas de COPI.
D. La toxina botulínica B actúa escindiendo sinaptobrevina, inhibiendo la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular.
E. La furina convierte la preproalbúmina en proalbúmina.

31. ¿Cuál de los siguientes tipos de proteína NO actúa como una GTPasa?
A. El factor de ribosilación ADP (ARF)
B. Las proteínas Rab
C. El factor sensible a N-etilmaleimida (NSF)
D. La Sar1
E. Las proteínas Ran

32. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. El colágeno tiene una estructura triple helicoidal, formando una superhélice derecha.
B. La prolina y la hidroxiprolina confieren rigidez al colágeno.
C. El colágeno contiene uno o más enlaces O-glucosídicos.
D. El colágeno carece de enlaces cruzados.
E. La deficiencia de vitamina C afecta la acción de prolil y lisil hidroxilasas.

33. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. La elastina contiene hidroxiprolina; pero no hidroxilisina.
B. La elastina contiene enlaces cruzados formados por desmosinas.
C. Aún no se han identificado enfermedades genéticas debidas a anormalidades de la elastina.
D. A diferencia del colágeno, sólo hay un gen que codifica a la elastina.
E. La elastina no contiene ninguna molécula de azúcar.

34. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. El síndrome de Marfan se debe a mutaciones en el gen que codifica la fibrilina-1, un componente principal de las microfibrillas.
B. Todos los subtipos del síndrome de Ehlers-Danlos se deben a mutaciones que afectan a los genes que codifican los diversos tipos de colágeno.
C. La laminina se encuentra en los glomérulos renales junto con la entactina, el colágeno tipo IV, y la heparina o sulfato de heparano.
D. Las mutaciones que afectan el colágeno de tipo IV pueden causar enfermedad renal grave.
E. Las mutaciones en el gen del colágeno 1A1 pueden causar osteogénesis imperfecta.

35. Seleccione de entre los siguientes enunciados el único que es FALSO:
A. La mayoría, pero no todos los GAG contienen un aminoazúcar y un ácido urónico.
B. Todos los GAG están sulfatados.
C. Los GAG se forman por las acciones de las glucosiltransferasas utilizando azúcares donados por azúcares de nucleótidos.
D. La acción de una epimerasa puede convertir el ácido glucurónico en ácido idurónico.

E. El proteoglicano agrecano contiene ácido hialurónico, sulfato de queratano y sulfato de condroitina.

36. Un bebé varón no está prosperando y, en el examen, se observa que tiene hepatomegalia y esplenomegalia, entre otros hallazgos. El análisis de orina revela la presencia de sulfato de dermatano y heparán sulfato. Usted sospecha que el paciente tiene el síndrome de Hurler. De la siguiente lista, seleccione la enzima que le gustaría haber evaluado para respaldar su diagnóstico:
    A. β-glucuronidasa
    B. β-galactosidasa
    C. α-l-iduronidase
    D. α-N-acetilglucosaminidasa
    E. Neuraminidasa

37. Usted ve a un niño en la clínica que está muy por debajo de la estatura promedio. Usted nota que el niño tiene extremidades cortas, tamaño normal del tronco, macrocefalia y una variedad de otras anomalías esqueléticas. Sospecha que el niño tiene acondroplasia. Seleccione de la siguiente lista la prueba que mejor confirmaría su diagnóstico:
    A. Medida de la hormona del crecimiento.
    B. Ensayos para enzimas implicadas en el metabolismo de GAG.
    C. Pruebas para mucopolisacáridos urinarios.
    D. Pruebas de genes para anormalidades del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR3)
    E. Pruebas genéticas para anomalías de la hormona del crecimiento.

SECCIÓN XI

Temas especiales (C)

CAPÍTULO 55

Hemostasia y trombosis

Peter L Gross, MD, MSc, FRCP (C), P Anthony Weil, PhD y Margaret L Rand, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Comprender la importancia de la hemostasia y la trombosis en la salud y la enfermedad.
- Describir los pasos que conducen a la activación plaquetaria.
- Identificar medicamentos antiplaquetarios y su modo de inhibición.
- Detallar las vías de la coagulación que conducen a la formación de fibrina.
- Identificar los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K.
- Proporcionar ejemplos de trastornos genéticos que conducen a hemorragia.
- Describir el proceso de la fibrinólisis.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los aspectos fundamentales de la biología de plaquetas se describen en este capítulo, así como los aspectos básicos de las proteínas del sistema de coagulación de la sangre y de la fibrinólisis. Los estados hemorrágicos y trombóticos pueden causar emergencias médicas graves, y las trombosis en las arterias coronarias y cerebrales son las principales causas de muerte en muchas partes del mundo. El manejo racional de estas condiciones requiere una comprensión clara de las bases de la activación plaquetaria, la coagulación sanguínea y la fibrinólisis.

LA HEMOSTASIA Y LA TROMBOSIS TIENEN TRES FASES COMUNES

La hemostasia es el cese del sangrado de un vaso cortado o seccionado, mientras que la **trombosis** ocurre cuando el endotelio que recubre los vasos sanguíneos se daña o se elimina (p. ej., al romperse una placa aterosclerótica). Estos procesos involucran vasos sanguíneos, agregación de plaquetas y proteínas plasmáticas que causan la formación o disolución de agregados de plaquetas y fibrina.

En la hemostasia, hay una vasoconstricción inicial del vaso lesionado, lo que provoca una disminución del flujo sanguíneo distal a la lesión. Entonces, la hemostasia y la trombosis comparten **tres fases**:

1. Formación de un **agregado de plaquetas** suelto y temporal en el sitio de la lesión. Las plaquetas se unen al colágeno en el sitio de lesión de la pared del vaso, forman tromboxano A_2 (TxA_2, *thromboxane* A_2) y liberan ADP, que activa otras plaquetas que fluyen cerca de la lesión. (El mecanismo de activación plaquetaria se describe a continuación). La trombina, formada durante la coagulación en el mismo sitio, causa una activación plaquetaria adicional. Luego, las plaquetas cambian de forma y, en presencia de fibrinógeno y/o factor de Von Willebrand, se agregan para formar el tapón hemostático (en la hemostasia) o el trombo (en la trombosis).
2. Formación de una **malla de fibrina** que se une al agregado de plaquetas formando un tapón o trombo hemostático más estable.

3. **Disolución** parcial o completa del tapón hemostático o trombo por la plasmina.

Hay tres tipos de trombos

Se distinguen tres tipos de trombos o coágulos. Los tres contienen **fibrina** en diversas proporciones.

1. El **trombo blanco** está compuesto de plaquetas y fibrina y es relativamente pobre en eritrocitos. Se forma en el sitio de una lesión o pared vascular anormal, en áreas donde el flujo sanguíneo es rápido (arterias).
2. El **trombo rojo** consiste en glóbulos rojos y fibrina. Se parece morfológicamente al coágulo formado en un tubo de ensayo y puede formarse *in vivo* en áreas de flujo sanguíneo retardado o estasis (p. ej., venas) con o sin lesión vascular, o puede formarse en un sitio de lesión o en un vaso anormal en conjunción con un tapón de plaquetas iniciador.
3. Un tercer tipo es **depósitos de fibrina** en vasos sanguíneos o capilares muy pequeños.

Primero describiremos algunos de los aspectos de la participación de las plaquetas y las paredes de los vasos sanguíneos en el proceso general. Luego, describiremos la vía de coagulación que conduce a la formación de fibrina. Esta separación de plaquetas y factores de coagulación es artificial, ya que ambos juegan papeles íntimos y a menudo mutuamente interdependientes en la hemostasia y la trombosis; esta estrategia facilita la descripción de los procesos globales involucrados.

La agregación plaquetaria requiere señalización transmembrana de entrada y salida

Las plaquetas normalmente circulan en forma de disco no estimulada. **Durante la hemostasia o la trombosis**, **las plaquetas se activan** y ayudan **a formar tapones hemostáticos o trombos** (**figura 55-1**). Están involucrados tres pasos principales: 1) adhesión al colágeno expuesto en los vasos sanguíneos; 2) liberación (exocitosis) de los contenidos de sus gránulos de almacenamiento; y 3) agregación.

Las plaquetas se adhieren al colágeno a través de receptores específicos en la superficie de las plaquetas, incluidos los complejos de glucoproteínas GPIa-IIa (integrina α2β1, véase capítulo 54) y GPIb-IX-V y GPVI. La unión de GPIb-IX-V al colágeno está mediada por el factor de Von Willebrand; esta interacción es muy importante en la adherencia plaquetaria al subendotelio en condiciones de alta tensión de corte que ocurre en los vasos pequeños y arterias parcialmente estenosadas.

Las plaquetas que están ligadas al colágeno cambian de forma y se extienden sobre el subendotelio. Estas plaquetas adherentes liberan el contenido de sus **gránulos de almacenamiento** (los gránulos densos y los gránulos alfas); algunas de las moléculas liberadas amplifican las respuestas a la lesión de la pared del vaso. La liberación de gránulos también es estimulada por la trombina.

La trombina, formada a partir de la cascada de coagulación (descrita a continuación), es el activador más potente de las plaquetas e inicia la activación al interactuar con sus receptores **receptor-1 activado por proteasa** (**PAR-1,** *protease-activated receptor-1*), **PAR-4** y **GPIb-IX-V** en la membrana plasmática de las plaquetas (figura 55-1A). Los sucesos adicionales que conducen a la activación plaquetaria al unirse a PAR-1 y PAR-4 son ejemplos de **señalización transmembrana desde el exterior,** en la que un mensajero químico fuera de la célula genera moléculas efectoras dentro de la célula (véase capítulo 42). En este caso, la trombina actúa como el mensajero químico externo (estímulo o agonista). La interacción de la trombina con sus receptores acoplados a proteína G PAR-1 y PAR-4 estimula la actividad de una **fosfolipasa Cβ intracelular** (**PLCβ,** *phospholipase Cβ*). Esta enzima hidroliza el fosfolípido de membrana **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** (**PIP_2**, *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*, un polifosfoinosítido) para formar las dos moléculas efectoras internas (**1,2-diacilglicerol** [**DAG,** *1,2-diacylglycerol*] y **1, 4,5-inositol trisfosfato** [**IP_3**, *1,4,5 inositol trisphosphate*]; véase figura 42-6 y 42-7).

La hidrólisis de PIP_2 también está involucrada en la acción de muchas hormonas y fármacos. DAG estimula la **proteína quinasa C**, que fosforila la proteína **pleckstrin** (47 kDa). Esto da como resultado la agregación y liberación de los contenidos de los gránulos de almacenamiento. El **ADP** liberado a partir de los gránulos densos también puede activar las plaquetas a través de sus receptores específicos acoplados a proteína G (figura 55-1A), lo que da como resultado la agregación de plaquetas adicionales. El **IP_3** causa la liberación de Ca^{2+} en el citosol principalmente del sistema tubular denso (o retículo endoplásmico liso residual del megacariocito), que luego interactúa con la calmodulina y la quinasa de cadena ligera de miosina, lo que lleva a la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina. Estas cadenas luego interactúan con la actina, causando cambios en la forma de las plaquetas.

La activación inducida por colágeno de una **fosfolipasa citosólica** plaquetaria A_2 ($cPLA_2$, *cytosolic phospholipase* A_2) por el aumento de los niveles de Ca^{2+} intracelular da como resultado la liberación de ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de la membrana plaquetaria, lo cual conduce a la formación de TxA_2 (véanse capítulos 21 y 23). TxA_2, a su vez, al unirse a su receptor específico acoplado a proteína G, puede activar aún más PLCβ, promoviendo la agregación plaquetaria (figura 55-1A).

Todos los **agentes agregantes**, incluidos la trombina, el colágeno, la ADP y otros, como el factor activador de plaquetas, a través de una **vía de señalización de adentro hacia afuera**, modifican el **complejo de glucoproteína** de la superficie de las plaquetas **GPIb-IIIa** (integrina αIIbβ3, véase capítulo 54), así el receptor tiene una mayor afinidad por el **fibrinógeno** o **el factor de Von Willebrand** (figura 55-1B). Las moléculas de fibrinógeno divalente o factor Von Willebrand multivalente unen las plaquetas adyacentes activadas entre sí, formando un agregado de plaquetas. Este, mediado por el factor de Von Willebrand, ocurre en condiciones de alta tensión de corte. Algunos agentes, incluyendo la adrenalina, la serotonina y la vasopresina, ejercen efectos sinérgicos con otros agentes agregantes.

Las plaquetas activadas, además de formar un agregado de plaquetas, aceleran la activación del factor de coagulación X y la protrombina al exponer el fosfolípido aniónico fosfatidilserina en la superficie de la membrana (véase más abajo para más detalles). El polifosfato, liberado de los gránulos densos, acelera la activación del factor V y también acelera la activación del factor XI por la trombina.

Las células endoteliales sintetizan prostaciclina y otros compuestos que afectan la coagulación y la trombosis

Las **células endoteliales** en las paredes de los vasos sanguíneos contribuyen de forma importante a la regulación general de la he-

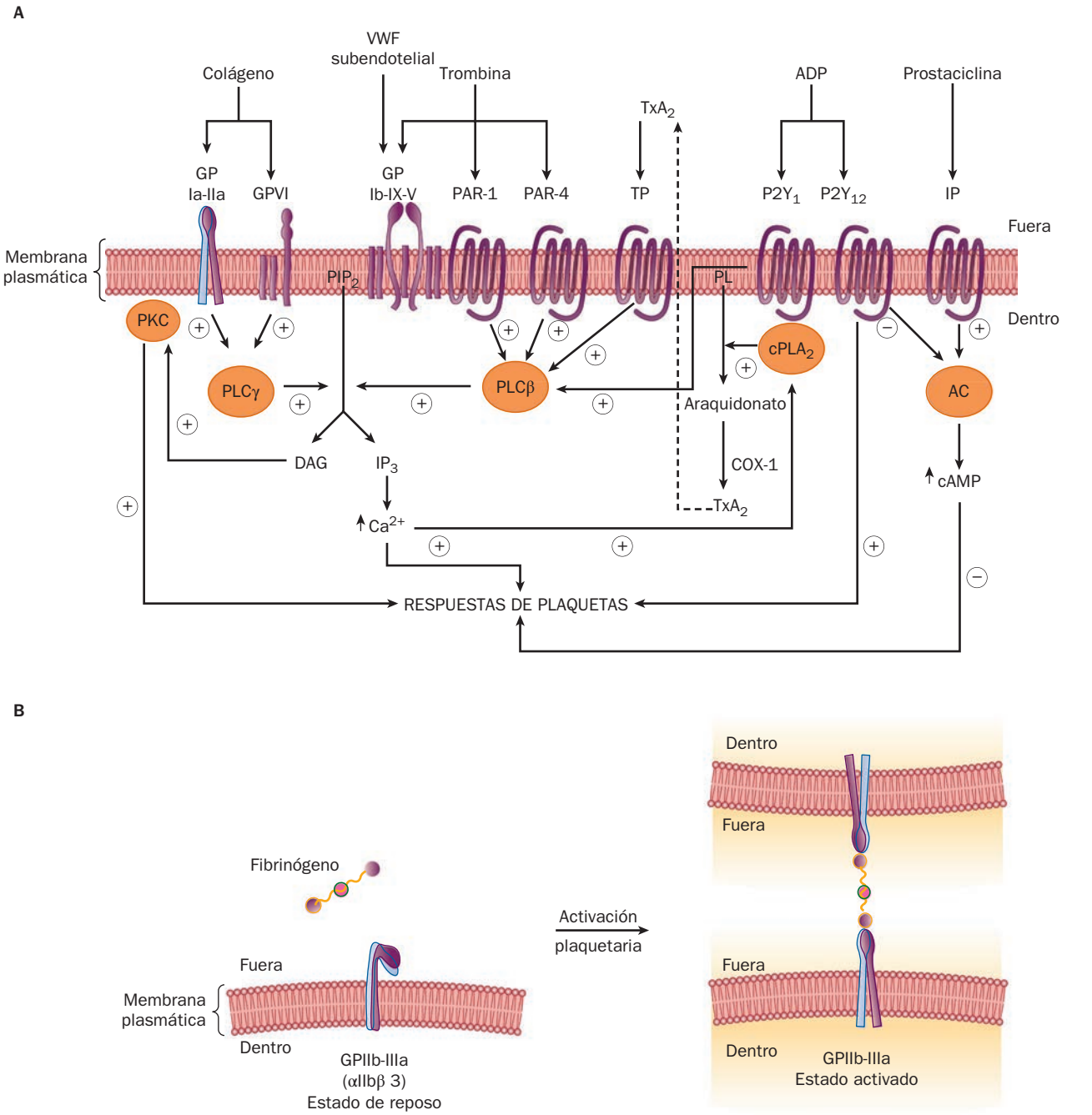


FIGURA 55-1 **A) Representación diagramática de la activación plaquetaria por colágeno, trombina, tromboxano A_2 y ADP, e inhibición por prostaciclina.** El entorno externo (fuera), la membrana plasmática y el interior de una plaqueta (dentro) se representan de arriba hacia abajo. Las respuestas plaquetarias incluyen, dependiendo del agonista, el cambio de la forma de las plaquetas, la liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento y la agregación. [AC (*adenylyl cyclase*): adenilil ciclasa; cAMP (*cyclic AMP*): AMP cíclico; COX-1, (*cyclooxigenase-1*): ciclooxigenasa-1; $cPLA_2$: fosfolipasa citosólica A_2; DAG: 1,2-diacilglicerol; GP (*glycoprotein*): glucoproteína; IP: receptor de prostaciclina; IP_3: inositol 1,4,5 -trifosfato; $P2Y_1$, $P2Y_{12}$ (*purinoceptors*): purinoceptores; PAR: receptor activado por proteasa; PIP_2: fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato; PKC: proteína quinasa C; PL: fosfolípido; PLCβ: fosfolipasa Cβ; PLCγ: fosfolipasa Cγ; TP (*thromboxane A2 receptor*): receptor de tromboxano A_2; TxA_2: tromboxano A_2, VWF (*von Willebrand factor*): factor von Willebrand]. Las proteínas G que están involucradas no se muestran. **B) Representación esquemática de la agregación plaquetaria mediada por la unión del fibrinógeno a las moléculas GPIIb-IIIa activadas en las plaquetas adyacentes.** Los eventos de señalización iniciados por todos los agentes agregantes transforman el GPIIb-IIIa de su estado de reposo a una forma activada que puede unirse al fibrinógeno divalente o, a la alta ruptura que se produce en los vasos pequeños, al factor Von Willebrand multivalente.

mostasia y la trombosis. Como se describe en el capítulo 23, estas células sintetizan el **prostanoide** prostaciclina (PGI_2, *prostacyclin*), un potente inhibidor de la agregación plaquetaria. La prostaciclina actúa estimulando la actividad de la adenilil ciclasa en las membranas superficiales de las plaquetas a través de su receptor acoplado a la proteína G (figura 55-1A). El aumento resultante de **cAMP** intraplaquetario se opone al aumento en el nivel de Ca^{2+} intracelular producido por IP_3 y por tanto inhibe la activación plaquetaria. Esto está en contraste con el efecto del prostanoide TxA_2, formado por las plaquetas activadas, que es la consecuencia de promover la agregación. Las células endoteliales desempeñan otras funciones en la regulación de la trombosis. Por ejemplo, estas células poseen una **ADPasa**, que hidroliza el ADP y, por tanto, se opone a su efecto agregante sobre las plaquetas. Además, estas células expresan proteoglucanos como **heparán sulfato**, un anticoagulante, y también liberan **activadores de plasminógeno**, que pueden ayudar a disolver los trombos. El óxido nítrico (factor relajante derivado del endotelio), otro potente inhibidor de las plaquetas, se analiza en el capítulo 51.

La aspirina es uno de los medicamentos antiplaquetarios efectivos

Los fármacos antiplaquetarios inhiben las respuestas plaquetarias. El fármaco antiplaquetario más utilizado es la **aspirina** (ácido acetilsalicílico), que se acetila irreversiblemente y, por tanto, inhibe la **ciclooxigenasa de las plaquetas** (**COX-1**) involucrada en la formación de TxA_2 (véase capítulo 21); TxA_2 es un potente agregador de plaquetas y también un vasoconstrictor. Las plaquetas son muy sensibles a la aspirina; tan poco como 30 mg de aspirina/día (una tableta normal de aspirina contiene 325 mg) elimina de forma eficaz la síntesis de TxA_2 por las plaquetas. La aspirina también inhibe la producción de PGI_2, que se opone a la agregación plaquetaria y es un vasodilatador, por las células endoteliales, pero a diferencia de las plaquetas, estas células regeneran ciclooxigenasa en unas pocas horas. Por tanto, el equilibrio general entre TxA_2 y PGI_2 se puede cambiar a favor de la agregación plaquetaria opuesta. Las indicaciones para el tratamiento con aspirina incluyen el manejo de los síndromes coronarios agudos (angina, infarto de miocardio), síndromes agudos de ictus (ataques isquémicos transitorios, accidente cerebrovascular agudo), estenosis de la arteria carótida severa y prevención primaria de estas y otras enfermedades aterotrombóticas.

Otros **fármacos antiplaquetarios** incluyen inhibidores específicos del receptor $P2Y1_2$ para ADP (p. ej., **clopidogrel**, **prasugrel** y **ticagrelor**) y los antagonistas de la unión del ligando a GPIIb-IIIa (p. ej., abciximab, eptifibatida y tirofiban) que interfieren con el fibrinógeno y la unión del factor Von Willebrand y, por tanto, la agregación plaquetaria.

Ambas vías extrínsecas e intrínsecas dan como resultado la formación de fibrina

Dos vías conducen a la formación de **coágulos de fibrina**: la **extrínseca** y la **intrínseca**. Estas vías no son independientes, como se pensaba antes. Sin embargo, esta distinción artificial se comenta en el siguiente texto para facilitar su descripción.

El inicio de la formación de coágulos de fibrina en respuesta a la **lesión tisular** se lleva a cabo por la vía extrínseca. La **vía intrínseca** puede activarse mediante superficies cargadas negativamente ***in vitro***, por ejemplo, vidrio. Ambas conducen a la conversión proteolítica de **protrombina** a **trombina**. Esta cataliza la escisión del **fibrinógeno** para iniciar la formación del coágulo de **fibrina**. Las vías extrínseca e intrínseca son complejas e involucran muchas proteínas diferentes (**figuras 55-2** y **55-3**, **cuadro 55-1**). Los factores de la coagulación son otro ejemplo de proteínas multidominio que comparten dominios conservados (véase figura 5-9). En general, como se muestra en el **cuadro 55-2**, estas proteínas pueden clasificarse en **cinco tipos**: 1) zimógenos de proteasas dependientes de serina que se activan durante el proceso de coagulación; 2) cofactores; 3) fibrinógeno; 4) un zimógeno de una transglutaminasa que entrecruza covalentemente la fibrina y estabiliza el coágulo de fibrina; y 5) proteínas reguladoras y otras.

La vía extrínseca conduce a la activación del factor X

La **vía extrínseca** implica factor tisular, factores VII y X y Ca^{2+} y da como resultado la producción de factor Xa (por convención, los factores de coagulación activados se identifican mediante el uso

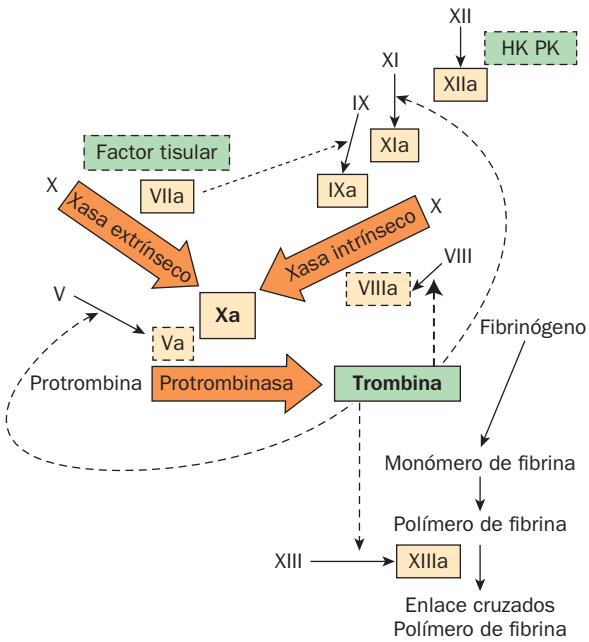


FIGURA 55-2 Las vías de la coagulación sanguínea, con la vía extrínseca indicada en la parte superior izquierda y la vía intrínseca, en la parte superior derecha. Las vías convergen en la formación del factor activo X (es decir, factor Xa) y culminan en la formación de fibrina reticulada (extremo inferior derecho). Los complejos de factor tisular y factor VIIa activan no sólo el factor X (Xasa extrínseco [tenasa]) sino también el factor IX en la vía intrínseca (flecha punteada). Además, la realimentación de trombina se activa en los sitios indicados (flechas discontinuas) y también activa el factor VII al factor VIIa (no mostrado). Los tres complejos predominantes, Xasa extrínseco, Xasa intrínseco y protrombinasa, están indicados dentro de las flechas grandes; estas reacciones requieren el procoagulante fosfolípido aniónico de membrana y calcio. Las proteasas activadas están en cajas sólidas; los cofactores activos están en cuadros delineados; y los factores inactivos no están en cajas. [HK (*high-molecular-weight kininogen*): quininógeno de alto peso molecular; PK (prekallikrein): precalicreína].

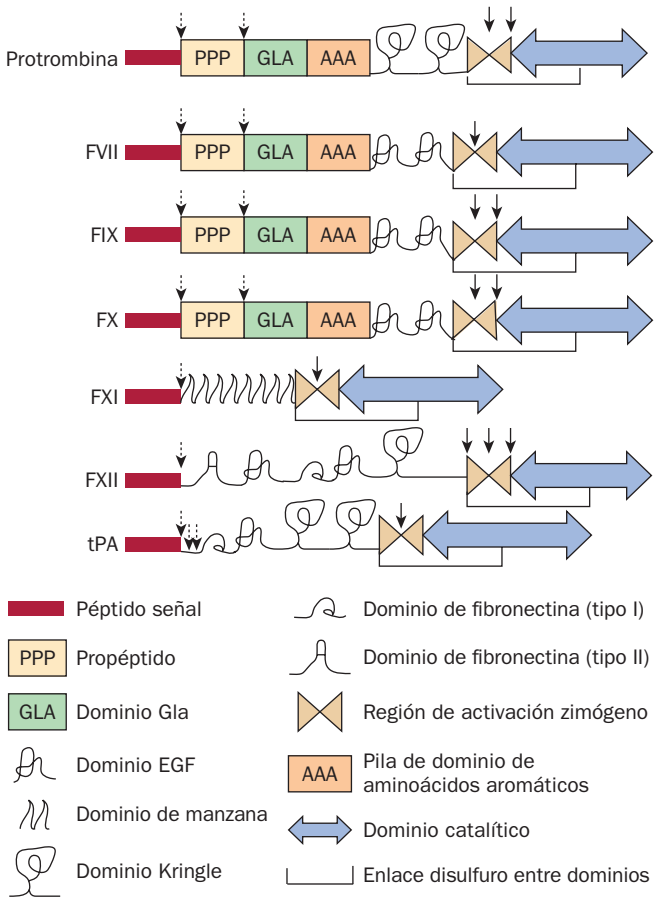


FIGURA 55-3 Los dominios estructurales de las proteínas seleccionadas implicadas en la coagulación y la fibrinólisis. Los dominios compartidos son el resultado de la duplicación de genes y la mezcla de exones que contribuyeron a la evolución molecular del sistema de coagulación. Los dominios se identifican en la parte inferior de la figura e incluyen péptido señal, propéptido, dominio Gla (γ-carboxiglutamato), dominio del factor de crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*), dominio de manzana, dominio kringle, dominio de fibronectina (tipos I y II), la región de activación del zimógeno, la pila de aminoácidos aromáticos y el dominio catalítico. Los enlaces disulfuro entre dominios están indicados, pero numerosos enlaces disulfuro intradominio no lo están. Los sitios de escisión proteolítica en síntesis o activación están indicados por flechas (punteadas y sólidas, respectivamente). (FVII: factor VII; FIX: factor IX; FX: factor X, FXI: factor XI; FXII: factor XII; t-PA [*tissue plasminogen activator*]: activador del plasminógeno tisular). (Adaptado con autorización de Furie B, Furie BC. La base molecular de la coagulación sanguínea. *Cell* 1988;53:505).

CUADRO 55-1 Sistema numérico para la nomenclatura de los factores de la coagulación sanguínea

Factor	Nombre(s) común(es)
I	Fibrinógeno
II	Protrombina
III	Factor tisular
	Estos factores por lo general son referidos por sus nombres comunes
IV	Ca^{2+}
	Ca^{2+} generalmente no se conoce como un factor de la coagulación
V	Proaccelerina, factor lábil, acelerador (Ac-, *accelerator*) globulina
VII[a]	Proconvertina, acelerador de la conversión de protrombina sérica (SPCA, *serum prothrombin conversión accelerator*), cromromboplastina
VIII	Factor antihemofílico A, globulina antihemofílica (AHG, *antihemophilic globulin*)
IX	Factor antihemofílico A, factor de Navidad, componente de plasma tromboplastina (PTC, *plasma thromboplastin component*)
X	Factor Stuart-Prower
XI	Antecedente de tromboplastina en plasma (PTA, *plasma thromboplastin antecedent*)
XII	Factor Hageman
XIII	Factor estabilizador de Fibrina (FSF, *fibrin stabilizing factor*), fibrinoligasa

[a]No hay factor VI.
Nota: Los números indican el orden en que los factores se han descubierto y no guardan relación con el orden en el que actúan.

del sufijo a). La **vía extrínseca** se inicia en el sitio de la **lesión tisular** con la exposición del **factor tisular** (TF, *tissue factor*; figura 55-2), localizado en el subendotelio y en los monocitos activados. TF interactúa con el **factor VII** y lo activa (53 kDa, un zimógeno que contiene residuos de γ-carboxiglutamato dependiente de vitamina K [Gla], véase capítulo 44), sintetizado en el hígado. Debe observarse que en los zimógenos que contienen Gla (factores II, VII, IX y X), los residuos Gla en las regiones aminoterminales de las moléculas sirven como sitios de unión de alta afinidad para Ca^{2+}. TF actúa como un cofactor para el **factor VIIa**, potenciando su actividad enzimática para activar el **factor X** (56 kDa). La reacción mediante la cual se activa el factor X requiere el ensamblaje del **complejo tenasa extrínseco** (**Ca^{2+} -TF-factor VIIa**) formado en una superficie de la membrana celular que expone el procoagulante aminofosfolípido aniónico fosfatidilserina. El factor VIIa escinde un enlace Arg-Ile en el factor X para producir la serina proteasa de dos cadenas, **factor Xa**. TF y el factor VIIa también activan el factor IX en la vía intrínseca. De hecho, ahora se considera que **la formación de complejos entre el TF unido a la membrana y el factor VIIa es el proceso clave implicado en el inicio de la coagulación sanguínea *in vivo***.

El inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI, *tissue factor pathway inhibitor*) es un importante inhibidor fisiológico de la coagulación. TFPI es una proteína que circula en la sangre donde inhibe directamente el factor Xa al unirse a la enzima cerca de su sitio activo. Este complejo factor Xa-TFPI luego inhibe el complejo del factor VIIa-TF.

La vía intrínseca también conduce a la activación del factor X

La formación del **factor Xa** es el sitio principal donde convergen las vías intrínseca y extrínseca (figura 55-2). La vía intrínseca (figura 55-2) involucra factores XII, XI, IX, VIII y X, así como precalicreína, quininógeno de alto peso molecular (HMW), Ca^{2+} y fosfatidilserina expuesta a la superficie celular. Esta vía da como resultado la producción del **factor Xa** por el complejo tenasa intrínseco (véase a

CUADRO 55-2 Las funciones de las proteínas involucradas en la coagulación de la sangre

Zimógenos de serina proteasas	
Factor XII	Se une a la superficie cargada negativamente, por ejemplo, caolín, vidrio; activado por quininógeno y calicreína de alto peso molecular
Factor XI	Activado por el factor XIIa
Factor IX	Activado por los factores XIa y VIIa
Factor VII	Activado por el factor VIIa y la trombina
Factor X	Activado en la superficie de las plaquetas activadas por el complejo tenasa (Ca^{2+}, factores VIIIa y IXa) y por el complejo tenasa extrínseco (Ca^{2+}, factor tisular y factor VIIa)
Protrombina (factor II)	Activado en la superficie de las plaquetas activadas por el complejo de protrombinasa (Ca^{2+}, factores Va y Xa) para formar trombina (los factores II, VII, IX y X son zimógenos que contienen Gla) (Gla = γ-carboxiglutamato)
Cofactores	
Factor VIII	Activado por la trombina; el factor VIIIa es un cofactor en la activación del factor X por el factor IXa
Factor V	Activado por la trombina; el factor Va es un cofactor en la activación de la protrombina por el factor Xa
Factor tisular (factor III)	Una glucoproteína localizada en el subendotelio y expresada en monocitos activados para actuar como cofactor del factor VIIa
Fibrinógeno	
Factor I	Escindido por la trombina para formar el coágulo de fibrina
Zimógeno de una transglutaminasa dependiente de tiol	
Factor XIII	Activado por la trombina; estabiliza el coágulo de fibrina mediante enlaces cruzados covalentes
Regulatorio y otras proteínas	
Proteína C	Activado a proteína C activada (APC, *activated protein C*) por la trombina unida a trombomodulina; luego degrada los factores VIIIa y Va
Proteína S	Actúa como un cofactor de proteína C; ambas proteínas contienen residuos Gla (γ-carboxiglutamato)
Trombomodulina	Proteína en la superficie de las células endoteliales; se une a la trombina, que luego activa la proteína C

continuación la composición), en la que el factor IXa sirve como la serina proteasa y el factor VIIIa como el cofactor. Como se señaló antes, la activación del **factor X proporciona un vínculo importante entre las vías intrínseca y extrínseca**.

La vía intrínseca puede iniciarse por "contacto", en el que la precalicreína, el quininógeno HMW, los factores XII y XI están expuestos a una superficie activadora cargada negativamente. *In vivo*, los polímeros de fosfatos, como DNA extracelular, RNA y polifosfato (macromoléculas disponibles sólo después del daño celular) pueden servir como esta superficie activadora cargada negativamente. El caolín, un silicato de aluminio hidratado muy cargado negativamente, puede usarse para pruebas *in vitro* como un iniciador de la ruta intrínseca. Cuando los componentes de la fase de contacto se ensamblan en la superficie de activación, el factor XII se activa al **factor XIIa** tras la proteólisis por la calicreína. Este factor XIIa, generado por calicreína, escinde precalicreína para generar más calicreína, estableciendo un ciclo de activación de retroalimentación positiva. El factor XIIa, una vez formado, activa el **factor XI** a **XIa** y también libera **bradiquinina** (un péptido con potente acción vasodilatadora) del quininógeno HMW.

En presencia de Ca^{2+}, el factor XIa activa el factor IX (55 kDa, un zimógeno que contiene Gla), a la serina proteasa, **factor IXa**. Esto, a su vez, también escinde un enlace Arg-Ile en el factor X para producir el **factor Xa**. Esta última reacción requiere el ensamblaje de componentes, llamado **complejo tenasa intrínseco**, **compuesto de factor VIIIa-factor IXa de Ca^{2+}**, que se forma en las superficies de la membrana procoagulante que expresan fosfatidilserina, a menudo plaquetas activadas. (Tenga en cuenta que este fosfolípido normalmente se encuentra en el lado de la valva interna de la bicapa de la membrana plasmática de plaquetas no activadas en reposo).

El **factor VIII** (330 kDa), una glucoproteína circulante, no es un precursor de proteasa sino un precursor de cofactor que, cuando se activa, sirve como un receptor en la superficie de las plaquetas para los factores IXa y X. El factor VIII se activa por cantidades diminutas de trombina para formar el **factor VIIIa**, que a su vez se inactiva con una escisión adicional por la proteína C activada mediada por la trombina (véase a continuación).

El papel de los **pasos iniciales de la vía intrínseca** en el inicio de la coagulación se ha cuestionado porque los pacientes con una deficiencia hereditaria de factor XII, precalicreína o quininógeno HMW no presentan problemas de sangramiento. Del mismo modo, los pacientes con una deficiencia del factor XI pueden no tener problemas de sangramiento. En la trombosis, las deficiencias en la vía intrínseca son protectoras. La vía intrínseca sirve en gran medida para **amplificar el factor Xa** y, en última instancia, la **formación de trombina**, a través de mecanismos de retroalimentación (véase a continuación). La vía intrínseca también puede ser importante en la **fibrinólisis** (véase a continuación), ya que la calicreína, los facto-

res XIIa y XIa pueden escindir el plasminógeno y la calicreína puede activar la uroquinasa de cadena sencilla.

El factor Xa conduce a la activación de protrombina a trombina

El factor Xa, producido por la vía extrínseca o intrínseca, activa la **protrombina** (factor II) a la trombina (factor IIa) (figura 55-2, cuadro 55-1).

La activación de la protrombina, como la del factor X, se produce en la superficie de la membrana y requiere el ensamblaje de un **complejo de protrombinasa**, que consiste en Ca^{2+} y los factores Va y Xa. El ensamblaje del complejo de protrombinasa, como el del complejo tenasa, tiene lugar en la superficie de la membrana que expone fosfatidilserina, a menudo plaquetas activadas.

El **factor V** (330 kDa) se sintetiza en el hígado, el bazo y el riñón y se encuentra tanto en las plaquetas como en el plasma. El factor Va funciona como un cofactor de una manera similar a la del factor VIIIa en el complejo tenasa. El factor V se activa al **factor Va** por trazas de trombina y se une específicamente a una membrana procoagulante (a menudo la de plaquetas) (**figura 55-4**) y forma un complejo con factor Xa y protrombina. Luego es inactivado por la proteína C activada (véase a continuación), proporcionando así un medio para limitar la activación de protrombina a trombina. La **protrombina** (72 kDa; figura 55-4) es una glucoproteína monocatenaria sintetizada en el hígado. La región aminoterminal de la protrombina (figura 55-3) contiene 10 residuos Gla, y el sitio de la proteasa activa dependiente de la serina está en el dominio catalítico próximo a la región carboxilo terminal de la molécula. Al unirse al complejo de factores Va y Xa en la membrana procoagulante (figura 55-4), la protrombina es escindida por el factor Xa en dos sitios para generar la molécula de trombina activa de dos cadenas, que luego se libera de la superficie de la membrana.

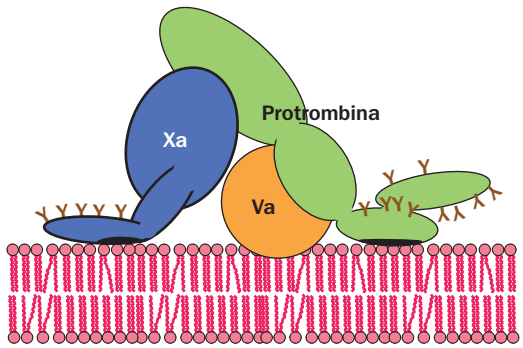


FIGURA 55-4 Representación esquemática del complejo protrombinasa unido a la membrana plasmática procoagulante. El complejo de protrombinasa contiene factores Va, Xa y protrombina. Un tema central en la coagulación de la sangre es el ensamblaje de los complejos proteicos, es decir, los complejos tenasa y el complejo protrombinasa, en una forma dependiente de Ca^{2+}, en las superficies de la membrana en las que se expone la fosfatidilserina. La eficacia catalítica de la activación de zimógeno se incrementa en muchos órdenes de magnitud por los complejos unidos a la membrana. Los residuos de γ-carboxiglutamato (indicado por Y) en las proteínas dependientes de la vitamina K se unen al calcio y contribuyen a la exposición de los sitios de unión a la membrana en estas proteínas (óvalos negros, Xa y protrombinasa).

La conversión de fibrinógeno a fibrina es catalizada por trombina

La trombina, producida por el complejo de protrombinasa, además de tener un potente efecto estimulador sobre las plaquetas (véase más arriba), **convierte el fibrinógeno en fibrina** (figura 55-2). El **fi-**

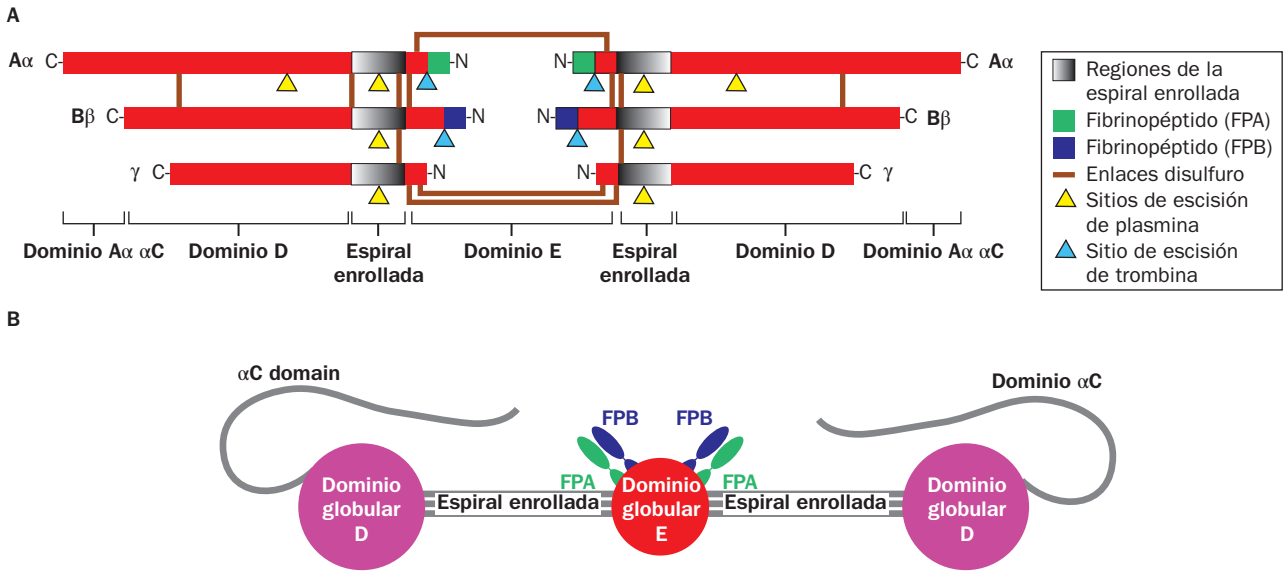


FIGURA 55-5 Representación esquemática del fibrinógeno. A) El fibrinógeno es una molécula dimérica, con cada mitad compuesta por tres cadenas polipeptídicas: **A**α, **B**β y γ. Los enlaces disulfuro unen las cadenas y las dos mitades de la molécula. **B)** El fibrinógeno forma una estructura trinodular con un dominio E central unido a través de regiones de la espiral enrollada a dos dominios D laterales, cada uno de los cuales contiene un dominio αC de la cadena Aα flexible. Los péptidos reguladores escindidos con trombina, fibrinopéptido A (FPA) y fibrinopéptido B (FPB) residen dentro del nódulo E, como se muestra.

brinógeno (factor I, 340 kDa; véanse figuras 55-2 y **55-5**; cuadros 55-1 y 55-2) es una glucoproteína plasmática soluble abundante (3 mg/mL) que consiste en un dímero de tres cadenas polipeptídicas, $(\mathbf{A}\alpha, \mathbf{B}\beta, \gamma)_2$, que está unido covalentemente por 29 enlaces disulfuro. Las cadenas **B**β y γ contienen oligosacáridos complejos unidos a asparagina (véase capítulo 46). Las tres cadenas se sintetizan en

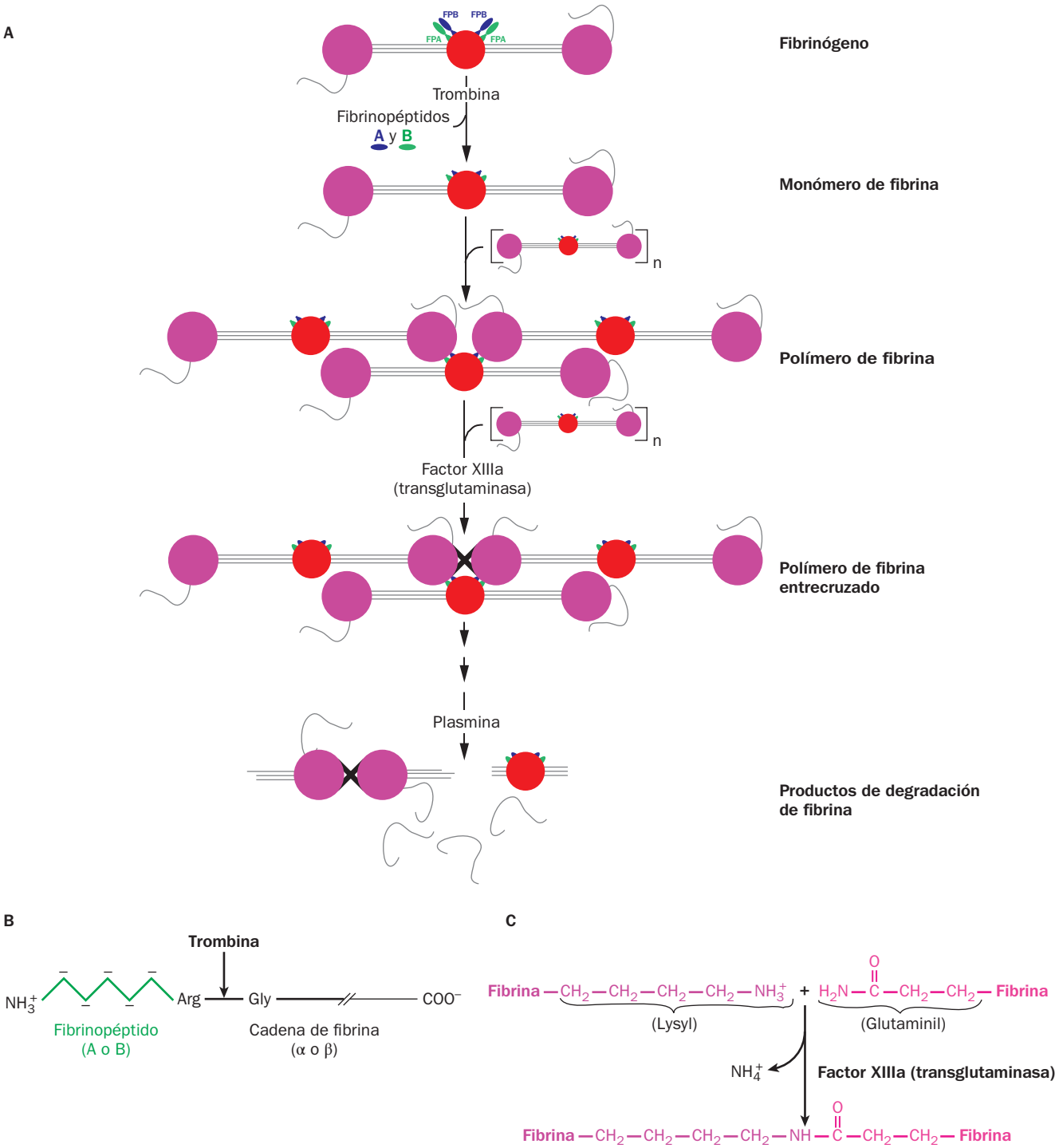


FIGURA 55-6 **Polimerización y degradación de fibrina.** A) La formación de monómero de fibrina por escisión del fibrinopéptido A (FPA) y fibrinopéptido B (FPB) del fibrinógeno por trombina, la polimerización espontánea de monómeros de fibrina a dímeros y oligómeros superiores, seguida de la estabilización de oligómeros de fibrina por el factor XIIIa- mediada por el entrecruzado covalente de monómeros de fibrina adyacentes. Por último (abajo) se ilustra la degradación de los polímeros de fibrina en productos de degradación solubles por digestión con plasmina, lo que conduce a la disolución del coágulo. B) Sitio de escisión de trombina de las cadenas de fibrinógeno Aα y Bβ para producir FPA/FPB (izquierda; verde) y las cadenas α y β del monómero de fibrina (derecha; negro). C) Esquema del entrecruzamiento mediado por factor XIIIa (transglutaminasa) de las moléculas de fibrina.

el hígado; los tres genes que codifican estas proteínas están en el mismo cromosoma donde su expresión está regulada de forma coordinada en los humanos. Las regiones aminoterminales de las seis cadenas se mantienen muy cerca de una serie de enlaces disulfuro (se muestra un subconjunto en la figura 55-5), mientras que las regiones carboxilo terminales se separan. Por tanto, la molécula de fibrinógeno tiene una estructura trinodular alargada con un dominio E central que está vinculado a los dominios D laterales a través de las regiones de la espiral en espiral (figura 55-5 y figura **55-6A**). Las porciones **A** y **B** del **extremo N** de las cadenas **A**α y **B**β se denominan **fibrinopéptido A** (FPA, *fibrinopeptide A*)) y **fibrinopéptido B** (FPB, *fibrinopeptide B*), respectivamente; estos dominios tienen una carga muy negativa como resultado de la abundancia de residuos de aspartato y glutamato (véase a continuación). Las cargas negativas contribuyen a la solubilidad del fibrinógeno en el plasma y, de manera importante, sirven también para evitar la agregación al provocar la repulsión electrostática entre las moléculas de fibrinógeno.

La **trombina** (34 kDa), la serina proteasa formada por el complejo de protrombinasa, hidroliza los cuatro enlaces Arg-Gly entre los fibrinopéptidos N-terminales y las porciones α y β de las cadenas de fibrinógeno **A**α y **B**β (figura 55-6A, B). La liberación de FPA y FPB por la trombina genera **monómero de fibrina**, que tiene la estructura de la subunidad $(\alpha, \beta, \gamma)_2$. Como FPA y FPB contienen sólo 16 y 14 residuos, respectivamente, la molécula de fibrina retiene 98% de los residuos presentes en el fibrinógeno. La eliminación de los fibrinopéptidos expone sitios de unión dentro del dominio E de los monómeros de fibrina que interactúan específicamente con los dominios complementarios dentro de los dominios D de otros monómeros de fibrina. De esta manera, los monómeros de fibrina se polimerizan de manera espontánea en un patrón medio escalonado para formar hebras largas (protofibrillas) (figura 55-6A). Aunque es insoluble, este coágulo de fibrina inicial es inestable y se mantiene unido sólo por la asociación no covalente de los monómeros de fibrina.

Además de convertir el fibrinógeno en fibrina, la trombina también activa el **factor XIII** al **factor XIIIa**. El factor XIIIa es una **transglutaminasa** muy específica que reticula covalentemente las cadenas γ y, más lentamente, cadenas α de las moléculas de fibrina formando enlaces peptídicos entre los grupos amida de glutamina y los grupos ε-amino de residuos de lisina (figura 55-6C). Tal entrecruzamiento produce un coágulo de fibrina más estable con una resistencia incrementada a la proteólisis. Esta malla de fibrina sirve para estabilizar el tapón hemostático o el trombo.

Los niveles de trombina circulante se controlan cuidadosamente

Una vez que se forma la trombina activa en el curso de la hemostasia o de la trombosis, su concentración debe controlarse cuidadosamente para prevenir la formación de fibrina o la activación plaquetaria. Esto se logra por **dos vías**. La trombina circula como su precursor inactivo, la protrombina, que se activa como resultado de una cascada de reacciones enzimáticas, cada una de las cuales convierte un zimógeno inactivo en una enzima activa y por último conduce a la conversión de protrombina en trombina (figura 55-2). En cada punto de la cascada, los **mecanismos de retroalimentación** producen un delicado equilibrio de activación e inhibición. La concentración del factor XII en el plasma es de casi 30 μg/mL, mientras que la del fibrinógeno es de 3 mg/mL, con factores de coagulación intermedios que aumentan en concentración a medida que uno avanza por la cascada; estos hechos ilustran que la cascada de coagulación proporciona **amplificación**. El segundo medio para controlar la actividad de la trombina es la **inactivación por los inhibidores circulantes de cualquier trombina formada**, el más importante de los cuales es la antitrombina (véase a continuación).

La actividad de la antitrombina, un inhibidor de la trombina, se ve aumentada por la heparina

Existen **cuatro inhibidores de la trombina** naturales en el plasma normal. El más importante es la **antitrombina**, que contribuye con casi 75% de la actividad antitrombina. La antitrombina también puede inhibir las actividades de los factores IXa, Xa, XIa, XIIa y VIIa complejizados con el factor tisular. La α_2-**macroglobulina** contribuye con la mayor parte del resto de la actividad antitrombina, con **cofactor de heparina II** y α_1-**antitripsina** que actúan como inhibidores menores en condiciones fisiológicas.

La actividad endógena de la antitrombina se potencia en gran medida por la presencia de glucosaminoglucanos sulfatados (heparanos) (véase capítulo 50). Los heparanos se unen a un sitio catiónico específico de antitrombina, que induce un cambio conformacional que promueve la unión de antitrombina a trombina y factor Xa, así como a sus otros sustratos. Este mecanismo es la base para el uso de la **heparina**, un heparán derivatizado, en medicina clínica para inhibir la coagulación. Los efectos anticoagulantes de la heparina pueden ser antagonizados por polipéptidos fuertemente catiónicos tales como la **protamina**, que se unen fuertemente a la heparina, inhibiendo así la unión de la heparina a la antitrombina.

Las **heparinas de bajo peso molecular** (**LMWH**, *low-molecular-weight heparins*), derivadas de la escisión enzimática o química de la heparina no fraccionada, tienen un uso más clínico. Se pueden administrar por vía subcutánea en el hogar, tienen una mayor biodisponibilidad que la heparina no fraccionada y no requieren una monitorización frecuente en el laboratorio.

Las personas con **deficiencias hereditarias de antitrombina** son propensas a desarrollar trombosis venosa, lo que proporciona evidencia de que la antitrombina tiene una función fisiológica y que el sistema de coagulación en los humanos normalmente está en un estado dinámico.

La **trombina** está involucrada en un mecanismo regulador adicional que opera en la coagulación. Se combina con la **trombomodulina**, una glucoproteína presente en las superficies de las células endoteliales. El complejo activa la **proteína C** en el **receptor de la proteína C endotelial**. En combinación con la **proteína S**, la **proteína C activada** (**APC**) degrada los factores Va y VIIIa, limitando así sus acciones en la coagulación. Una deficiencia genética de proteína C o de proteína S puede causar trombosis venosa. Además, los pacientes con **factor V Leiden** (que tiene un residuo de glutamina en lugar de una arginina en la posición 506) tienen un mayor riesgo de enfermedad trombótica venosa porque el factor V Leiden es resistente a la inactivación por APC; esta condición también se denomina resistencia APC.

Los anticoagulantes cumarínicos inhiben la carboxilación dependiente de vitamina K de los factores II, VII, IX y X

Los **medicamentos cumarínicos** (p. ej., warfarina), que se usan como anticoagulantes, inhiben la carboxilación dependiente de vitamina K de los residuos Glu a Gla (véase capítulo 44) en las regiones aminoterminales de los factores II, VII, IX y X y también proteínas

C y S. Estas proteínas, cada una de las cuales se sintetizan en el hígado, dependen de las propiedades de unión a Ca^{2+} de los residuos Gla para su función normal en las vías de la coagulación. **Los cumarínicos inhiben la reducción de los derivados de quinona de la vitamina K a las formas de hidroquinona activa** (véase capítulo 44). Por tanto, la administración de vitamina K evitará la inhibición inducida por cumarínicos y permitirá la modificación postraduccional de la carboxilación. La reversión de la inhibición de los cumarínicos por la vitamina K requiere de 12 a 24 horas, mientras que la reversión de los efectos anticoagulantes de la heparina por la protamina es casi instantánea. La reversión de los cumarínicos se logra más rápido al infundir factores de coagulación normales.

La **heparina** y la **warfarina** se usan en el tratamiento de afecciones trombóticas y tromboembólicas, como la trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar, y la prevención del accidente cerebrovascular en pacientes con fibrilación auricular. La heparina se administra primero, debido a su inicio de acción rápido, mientras que la warfarina tarda varios días en alcanzar el efecto completo, el cual no es predecible con la dosificación y, por tanto, debido al riesgo de producir hemorragia, estos medicamentos se vigilan de cerca mediante el uso de pruebas de coagulación apropiadas (véase a continuación).

Nuevos inhibidores orales de la trombina (p. ej., dabigatrán) o del factor Xa (p. ej., rivaroxabán, apixabán y otros) también se usan en la prevención y el tratamiento de afecciones trombóticas. Estos medicamentos son ventajosos porque su efecto es predecible en función de la dosis, y algunos no requieren una monitorización de rutina mediante pruebas de laboratorio. Los agentes reversibles específicos, como los anticuerpos o las moléculas señuelo, se encuentran en diversas etapas de desarrollo. Los agentes que se dirigen a los factores "intrínsecos" se están evaluando como antitrombóticos.

Hay varios desórdenes hemorrágicos hereditarios, incluida la hemofilia A

En los humanos se encuentran **deficiencias heredadas** del sistema de la coagulación que producen hemorragias. La más común es la deficiencia de factor VIII, que causa la **hemofilia A**, una enfermedad ligada al cromosoma X. La **hemofilia B**, también **ligada al cromosoma X**, se debe a una deficiencia del factor IX y recientemente se le ha identificado como la forma de hemofilia que desempeñó un papel principal en la historia de las familias reales de Europa. Las características clínicas de la hemofilia A y B son casi idénticas, pero estas dos enfermedades se pueden distinguir fácilmente sobre la base de análisis específicos para los dos factores.

El **gen para el factor VIII humano** mide 186 kb de longitud y contiene 26 exones que codifican una proteína de 2 351 aminoácidos. Se ha detectado una variedad de mutaciones en los genes del factor VIII y IX que conducen a actividades disminuidas de las proteínas del factor VIII y IX; estos incluyen deleciones génicas parciales y mutaciones puntuales y sin sentido. El **diagnóstico prenatal** por análisis de DNA después del muestreo de vellosidades coriónicas ahora es posible (véase capítulo 39).

El tratamiento para pacientes con hemofilia A consistió inicialmente, en la década de 1960, en la administración de crioprecipitado (enriquecido en factor VIII) preparado a partir de donantes individuales; en la década de 1970, los concentrados liofilizados de factor VIII o factor IX, preparados a partir de grandes grupos de plasma, se volvieron disponibles para el tratamiento de pacientes con hemofilia A y B, respectivamente. En la década de 1990, se introdujeron los factores VIII y IX preparados mediante tecnología de DNA recombinante (véase capítulo 39). Dichas preparaciones están libres de virus contaminantes (p. ej., hepatitis A, B, C o HIV-1) que se encuentran en el plasma humano, pero son caros; su uso aumentará a medida que el costo de producción disminuya. Los factores recombinantes de acción más prolongada con vidas medias extendidas en la circulación están ahora en uso, y la hemofilia es un objetivo de los enfoques de terapia génica.

El trastorno hemorrágico hereditario más común es la **enfermedad de Von Willebrand**, con una prevalencia de hasta 1% de la población. Es el resultado de una deficiencia o defecto en el **factor de Von Willebrand**, una gran glucoproteína multimérica secretada por las células endoteliales y las plaquetas en el plasma, donde estabiliza el factor VIII. El factor Von Willebrand también promueve la adhesión plaquetaria en los sitios de lesión de la pared del vaso y la agregación plaquetaria en condiciones de alta tensión de corte (véase arriba).

Los coágulos de fibrina se disuelven por la plasmina

Como se indicó antes, el sistema de coagulación se encuentra normalmente en un estado de equilibrio dinámico en el que los coágulos de fibrina se depositan y se disuelven constantemente. Este último proceso se denomina **fibrinólisis**. La **plasmina**, la serina

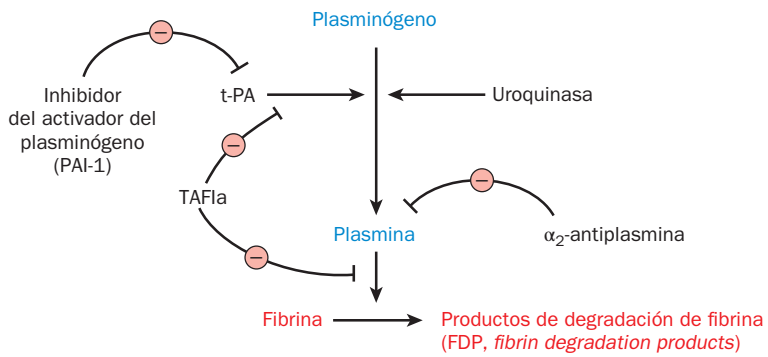


FIGURA 55-7 Iniciación de la fibrinólisis mediante la activación de plasminógeno a plasmina. Esquema de sitios y modos de acción del activador del plasminógeno tisular (t-PA), uroquinasa, inhibidor del activador del plasminógeno, α_2-antiplasmina e inhibidor de la fibrinólisis activable por la trombina (TAFIa, *thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor*).

proteasa, la principal responsable de la degradación de la fibrina y el fibrinógeno, circula en forma de zimógeno inactivo, **plasminógeno** (90 kDa), y cualquier pequeña cantidad de plasmina que se forme en la fase fluida en condiciones fisiológicas se inactiva de manera acelerada por la rápida actuación del inhibidor de plasmina, α_2-antiplasmina. El plasminógeno se une a la fibrina y, por tanto, se incorpora en los coágulos a medida que se producen; dado que la plasmina que se forma cuando está unida a la fibrina está protegida de la a_2-antiplasmina, permanece activa. Se encuentran **activadores de plasminógeno** de diversos tipos en la mayoría de los tejidos corporales, y todos escinden el mismo enlace Arg-Val en el plasminógeno para producir la serina proteasa de dos cadenas unida por puentes disulfuro, plasmina (**figura 55-7**). La **especificidad de la plasmina por la fibrina** es otro mecanismo para regular la fibrinólisis. A través de uno de sus dominios kringle, la plasmina (ogen) se une específicamente a los residuos de lisina en la fibrina y, por tanto, se incorpora cada vez más a la malla de fibrina a medida que la escinde. (Los dominios de Kringle [figura 55-3] son motivos proteicos comunes de casi 100 residuos de aminoácidos de longitud, tienen una estructura covalente característica definida por un patrón de tres enlaces disulfuro). Por tanto, la carboxipeptidasa activa el **inhibidor de la fibrinólisis activable por la trombina** (**TAFIa**) (figura 55-7), que elimina las lisinas terminales de la fibrina, y es capaz de inhibir la fibrinólisis. La trombina activa TAFI a TAFIa, inhibiendo así la fibrinólisis durante la formación del coágulo.

El **activador del plasminógeno tisular** (**t-PA**) (figuras 55-3 y 55-7) es una serina proteasa que se libera a la circulación desde el endotelio vascular bajo condiciones de lesión o estrés y es catalíticamente inactiva a menos que se una a la fibrina. Al unirse a la fibrina, el t-PA escinde el plasminógeno dentro del coágulo para generar plasmina, que a su vez digiere la fibrina para formar productos de degradación solubles y así disuelve el coágulo. Ni la plasmina ni el activador del plasminógeno pueden permanecer unidos a estos productos de degradación, por lo que se liberan en la fase fluida donde son inactivados por sus inhibidores naturales. La prouroquinasa es el precursor de un segundo activador de plasminógeno, la **uroquinasa**. Originalmente aislada de la orina, ahora se sabe que la uroquinasa se sintetiza por diversos tipos de células que incluyen monocitos y macrófagos, fibroblastos y células epiteliales. La acción principal de la uroquinasa parece ser la degradación de la matriz extracelular. La figura 55-7 indica los sitios de acción de cinco proteínas que influyen en la formación y acción de la plasmina.

El t-PA y la estreptoquinasa recombinante se utilizan como destructores del coágulo

El t-PA, comercializado como **alteplasa**, se produce por métodos de DNA recombinante. Se usa terapéuticamente como agente fibrinolítico, así como la **estreptoquinasa**, una enzima secretada por varias cepas de bacterias estreptocócicas. Sin embargo, esta última es menos selectiva que el t-PA, activando el plasminógeno en la fase fluida (donde puede degradar el fibrinógeno circulante) y el plasminógeno unido a un coágulo de fibrina. La cantidad de plasmina producida por dosis terapéuticas de estreptoquinasa puede exceder la capacidad de la α_2-antiplasmina circulante, lo que hace que el fibrinógeno y la fibrina se degraden y se produzca la hemorragia que a menudo ocurre durante la terapia fibrinolítica. Debido a su **selectividad** relativa para la degradación de la fibrina, el t-PA recombinante se ha utilizado ampliamente para restablecer la permeabilidad de las arterias coronarias después de la trombosis. Si se administra lo suficientemente temprano, antes de que ocurra un daño irreversible del músculo cardiaco (casi 6 horas después del inicio de la trombosis), el t-PA puede reducir de modo significativo la tasa de mortalidad por daño al miocardio después de la trombosis coronaria. La estreptoquinasa también se ha utilizado ampliamente en el tratamiento de la trombosis coronaria, pero tiene la desventaja de ser antigénico. El t-PA también se ha utilizado en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico, la oclusión arterial periférica, la trombosis venosa profunda y la embolia pulmonar.

Hay una serie de trastornos, que incluyen cáncer y sepsis, en los que **aumentan las concentraciones de activadores del plasminógeno**. Además, las **actividades antiplasmina** contribuidas por α_1-antitripsina y α_2-antiplasmina pueden verse afectadas en enfermedades como la cirrosis. Dado que ciertas proteínas bacterianas, como la estreptoquinasa, son capaces de activar el plasminógeno, pueden ser responsables de la hemorragia difusa que a veces se observa en pacientes con infecciones bacterianas diseminadas.

Las pruebas de laboratorio miden la agregación plaquetaria, la coagulación y la trombólisis

Una cantidad de **pruebas de laboratorio** están disponibles para **medir las fases de la hemostasia** antes descritas. Las pruebas incluyen **recuento de plaquetas, tiempo de sangramiento/tiempo de cierre, agregación plaquetaria, tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT, *activated partial thromboplastin time* o PTT, *partial thromboplastin time*), tiempo de protrombina (PT, *prothrombin time*), tiempo de trombina (TT, *thrombin time*), concentración de fibrinógeno, estabilidad del coágulo de fibrina y medición de la degradación de productos de fibrina**. El **recuento de plaquetas** cuantifica el número de plaquetas. El **tiempo de sangramiento cutáneo** es una prueba global de la función plaquetaria y de la pared del vaso, mientras que el **tiempo de cierre** medido, utilizando la función plaquetaria, el analizador PFA-100/200, es una prueba *in vitro* de la hemostasia relacionada con las plaquetas. La **agregación plaquetaria** mide las respuestas a agentes agregadores específicos. aPTT es una medida de la vía intrínseca y PT de la vía extrínseca, la primera se utiliza para controlar la terapia con heparina y la segunda, para medir la eficacia de la warfarina. Al lector se le sugiere un libro de texto de hematología para una discusión de estas pruebas.

RESUMEN

- La hemostasia y la trombosis son procesos complejos que involucran plaquetas, factores de la coagulación y vasos sanguíneos.
- La trombina y otros agentes causan la agregación plaquetaria, que implica una variedad de eventos bioquímicos y morfológicos. La estimulación de la fosfolipasa C y la vía de la polifosfoinositida es un evento clave en la activación plaquetaria, pero también están involucrados otros procesos.
- La aspirina es un fármaco antiplaquetario importante que actúa inhibiendo la producción de tromboxano A_2.
- Muchos factores de coagulación son zimógenos de serina proteasas, que se activan y luego se inactivan durante el proceso general.
- Existen tanto vías extrínsecas como intrínsecas de la coagulación, la primera iniciada *in vivo* por el factor tisular. Las vías convergen en el factor Xa, lo que da como resultado la conversión catalizada por trombina del fibrinógeno en fibrina, que se ve reforzada por el entrecruzamiento covalente, catalizada por el factor XIIIa.

- Ocurren desórdenes genéticos que conducen a hemorragias; los principales trastornos incluyen factor VIII (hemofilia A), factor IX (hemofilia B) y el factor Von Willebrand (enfermedad de Von Willebrand).
- La antitrombina es un importante inhibidor natural de la coagulación; la deficiencia genética de esta proteína puede provocar trombosis.
- Los factores II, VII, IX y X y las proteínas C y S requieren γ-carboxilación dependiente de vitamina K de ciertos residuos de glutamato para funcionar en la coagulación. Este proceso de carboxilación puede ser inhibido por el anticoagulante warfarina.
- La fibrina se disuelve con la plasmina, la cual existe como un precursor inactivo, el plasminógeno, que puede ser activado por el activador del plasminógeno tisular (t-PA). Este es muy utilizado clínicamente para tratar la trombosis reciente en las arterias coronarias.

REFERENCIAS

Hoffman R, Benz EJ Jr, Silberstein LR, *et al* (eds.). *Hematology: Basic Principles and Practice*. 7th ed. Elsevier Saunders; 2017.

Israels SJ (ed.). *Mechanisms in Hematology*. 4th ed. Core Health Sciences Inc; 2011. (Este texto tiene excelentes ilustraciones de mecanismos básicos en hematología).

Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, *et al*. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed. McGraw-Hill; 2016.

Marder VJ, Aird WC, Bennett JS, *et al* (eds.). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Michelson AD (ed.). *Platelets*. 3rd ed. Elsevier; 2013.

CAPÍTULO 56

Cáncer: una visión general

Molly Jacob, MD, PhD, Joe Varghese, PhD y P Anthony Weil, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Presentar una visión general de la carcinogénesis y las importantes características bioquímicas y genéticas de las células cancerígenas.
- Describir las propiedades importantes de los oncogenes y los genes supresores de tumores y su papel en la carcinogénesis.
- Describir las características importantes de las células cancerígenas que las distinguen de las células normales.
- Describir brevemente los conceptos de inestabilidad genómica, aneuploidía y angiogénesis en la formación y crecimiento de tumores.
- Discutir la relevancia de los marcadores tumorales.
- Resumir cómo la comprensión de la biología del cáncer ha llevado al desarrollo de varias terapias nuevas.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los **cánceres** constituyen la **segunda causa más común de muerte** en muchos países después de las enfermedades cardiovasculares. Aproximadamente 9 millones de personas en todo el mundo mueren de cáncer cada año, y se prevé que esta cifra aumente. Los seres humanos de todas las edades desarrollan cáncer y una gran variedad de órganos se ven afectados. En todo el mundo, los principales tipos de cáncer mortales son los que afectan al pulmón, el estómago, el colon, el recto, el hígado y la mama. Otros tipos de cáncer que conducen a la muerte incluyen cánceres de cuello uterino, esofágico y de próstata. Los cánceres de piel también son muy comunes, pero aparte de los melanomas, no son por lo general tan agresivos como los mencionados anteriormente. La **incidencia** de muchos cánceres **aumenta con la edad**. Por tanto, como las personas viven más tiempo, muchas más desarrollarán la enfermedad. Los factores hereditarios juegan un papel en algunos tipos de tumores. Además del gran sufrimiento individual causado por la enfermedad, la carga económica para la sociedad es inmensa.

ALGUNOS COMENTARIOS GENERALES SOBRE LAS NEOPLASIAS

La neoplasia es cualquier crecimiento nuevo anormal de un tejido. Puede ser de naturaleza benigna o maligna. El término "cáncer" se asocia generalmente con tumores malignos. Los tumores pueden surgir en cualquier órgano del cuerpo y dar lugar a diferentes características clínicas, dependiendo de la ubicación del crecimiento.

Las **células cancerígenas** se caracterizan por ciertas propiedades clave: 1) **proliferan rápidamente**; 2) **muestran un control de crecimiento disminuido**; 3) **muestran mutaciones genómicas aumentadas** a nivel de nucleótido, inserciones y supresiones pequeñas y grandes (indels), y reordenamientos cromosómicos totales, duplicaciones y pérdida; 4) muestran **pérdida de inhibición de contacto** en el cultivo *in vitro*; 5) invaden los tejidos locales y se diseminan, o **hacen metástasis**, a otras partes del cuerpo; 6) son **autosuficientes en señales de crecimiento** y son **insensibles a las señales de anticrecimiento**; 7) estimulan la **angiogénesis** local; y 8) a menudo son capaces de **evadir la apoptosis**. Estas propiedades son características de las células de **tumores malignos**. La metástasis es generalmente la causa de muerte de pacientes que tienen cáncer. Por el contrario, las células de **tumores benignos** también muestran un control disminuido del crecimiento, pero no invaden el tejido local ni se diseminan a otras partes del cuerpo. Estos puntos se resumen en la figura 56-1 y se amplifican en la figura 56-2.

Las cuestiones centrales en oncología (el estudio del cáncer) incluyen la aclaración de los mecanismos bioquímicos y genéticos que subyacen al crecimiento descontrolado de las células cancerígenas y su capacidad para invadir y hacer metástasis, y el desarrollo de tratamientos exitosos que destruirán las células cancerígenas y causarán daños mínimos a las células normales. Se ha logrado un progreso considerable en la comprensión de la naturaleza básica de las células cancerígenas, y ahora se acepta generalmente que aunque las mutaciones en genes clave contribuyen de manera significativa a la formación de tumores malignos, particularmente en la fase de iniciación de la oncogénesis, otros factores también están implicados en el desarrollo de fenotipos malignos. El estado inmunológico

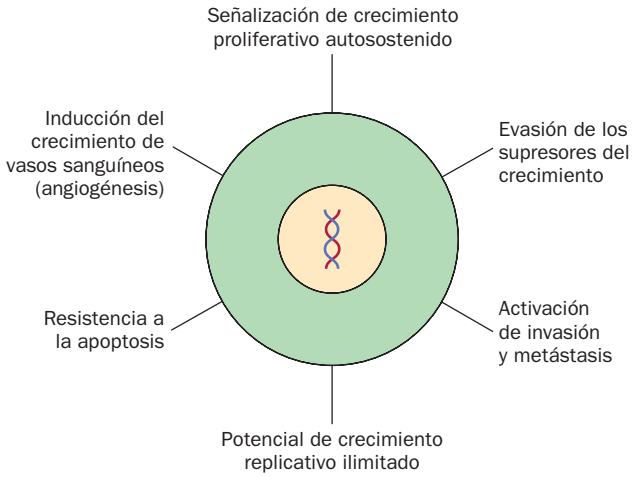


FIGURA 56-1 Seis características biológicas principales de las células cancerígenas. En la figura 56-2 se muestran otras propiedades clave de las células cancerígenas. (Después de Hanahan D, Weinberg RA. Los sellos distintivos de cáncer: la próxima generación. *Cell* 2011;144:646-674).

del organismo y el microambiente tisular son dos de estos factores. Trabajos recientes han demostrado que el microambiente de las células tumorales y del huésped, y las interacciones entre ellas, contribuyen a la patogénesis de los cánceres malignos. Sin embargo, muchos aspectos del comportamiento de las células cancerígenas, en particular su capacidad de metástasis, aún no se han explicado por completo. Además, a pesar de las mejoras en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, las terapias en ocasiones no tienen éxito. Este capítulo tiene como objetivo presentar al lector los conceptos clave de la biología del cáncer. Un glosario al final del capítulo define muchos de los términos utilizados en el documento.

LAS CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE LA CARCINOGÉNESIS

Se cree que el daño genético no letal es el evento iniciador en la carcinogénesis. Existen varias clases amplias de genes que, cuando mutan, causan ganancia o pérdida de función o una mala regulación, y esto puede conducir al desarrollo de un tumor. Estos son **protooncogenes**, genes **supresores de tumores**, genes de **síntesis** y **reparación del DNA**, genes que regulan la **apoptosis** o genes que causan la **evasión de la vigilancia inmune**.

El cáncer es de **origen clonal**, con una única célula anormal (a menudo con muchas alteraciones genéticas) que se multiplica para convertirse en una masa de células que forman un tumor. Como se mencionó anteriormente, el microambiente tisular afecta significativamente la formación de tumores. La naturaleza exacta de estas influencias puede variar con los tipos de células involucradas, las interacciones célula-célula y la presencia de factores como señales

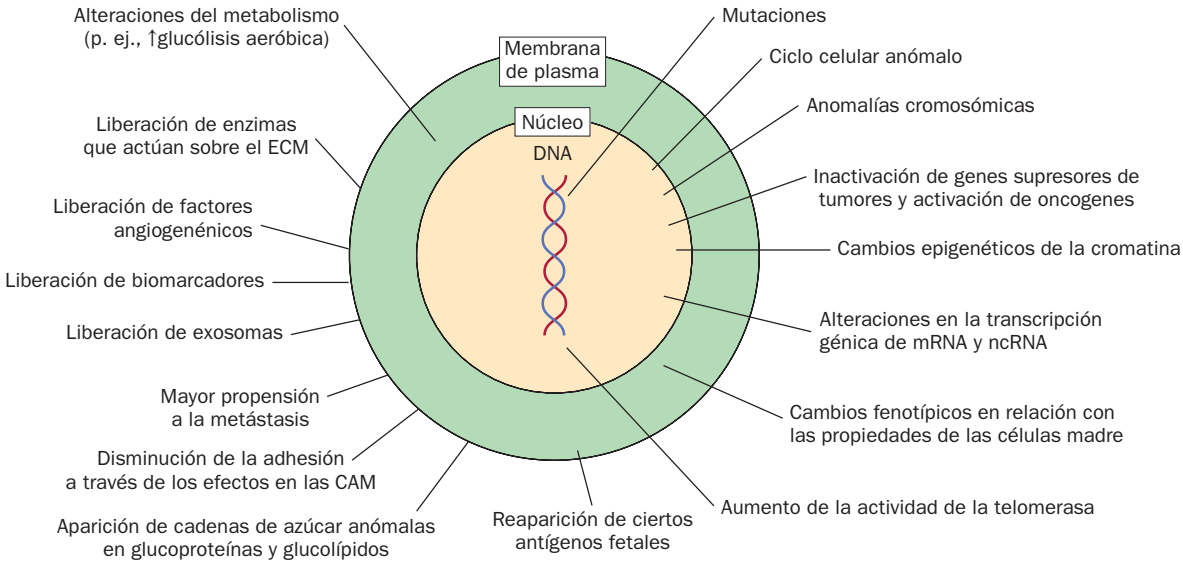


FIGURA 56-2 Algunos cambios bioquímicos y genéticos que ocurren en las células cancerígenas humanas. Se pueden observar muchos cambios, además de los indicados en la figura 56-1, en células cancerígenas; sólo algunos de estos se muestran aquí. El papel de las mutaciones en la activación de oncogenes y la desactivación de genes supresores de tumores se discuten en el texto. Las anomalías de la progresión del ciclo celular y de la estructura del cromosoma y la cromatina, incluida la aneuploidía, son comunes. Se han informado alteraciones de la expresión de mRNA específicos y ncRNA reguladores, y la relación de las células madre con las células cancerígenas es un área de investigación muy activa. La actividad de la telomerasa a menudo es detectable en las células cancerígenas. Los tumores a veces sintetizan ciertos antígenos fetales, que pueden medirse en la sangre. En muchos estudios se han detectado cambios en los constituyentes de la membrana plasmática (p. ej., alteración de las cadenas de azúcar de varias glucoproteínas, algunas de las cuales son moléculas de adhesión celular y glucolípidos) y pueden ser importantes en relación con la disminución de la adhesión celular y la metástasis. Se liberan varias moléculas de células cancerígenas, en formas vesiculares solubles o unidas a la membrana (exosomas), y pueden detectarse en la sangre o el fluido extracelular; estos incluyen metabolitos, lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos. Los factores angiogénicos y varias proteinasas también son liberados por algunos tumores. Se han observado muchos cambios en el metabolismo; por ejemplo, las células cancerígenas muestran a menudo un alto nivel de glucólisis aeróbica. [CAM (*cell adhesion molecule*): molécula de adhesión celular; ECM (*extracellular matrix*): matriz extracelular].

paracrinas, hipoxia local y respuestas proinflamatorias. La **carcinogénesis** es, por tanto, un proceso de **múltiples pasos** que finalmente transforma las células normales en células malignas. Los tumores a menudo tardan de unos pocos a decenas de años en desarrollarse a niveles macroscópicos.

CAUSAS DEL DAÑO GENÉTICO

El daño genético que causa cáncer puede deberse a **mutaciones adquiridas** o **heredadas**. Las mutaciones adquiridas ocurren ya sea por errores en la replicación o en la reparación del DNA, denominadas **mutaciones de replicación** (**R**, *replication mutations*) o por exposición a carcinógenos ambientales, llamadas **mutaciones ambientales** (**E**, *environmental mutations*) (radiación, productos químicos y virus, véase más adelante). La tercera clase principal de mutación oncogénica se denomina **mutación hereditaria** (**H**, *hereditary mutations*); las mutaciones heredadas se derivan de uno o ambos padres. Tales anomalías hereditarias resultan en una serie de **afecciones familiares** que predisponen al cáncer hereditario. Estas mutaciones se encuentran en genes específicos (p. ej., genes supresores de tumores, genes de reparación del DNA, genes de control del ciclo celular, etc.) presentes en las células germinales, y se analizan más adelante en este capítulo. Las mutaciones de las variedades R, E y H causan conjuntamente la mayoría de los cánceres humanos, aunque el porcentaje exacto de un tipo particular de cáncer causado por estos tres tipos de mutaciones varía, y de hecho se debate activamente en el campo de la oncología médica.

Las **mutaciones espontáneas**, algunas de las cuales pueden predisponer al cáncer, ocurren a una frecuencia de aproximadamente 10^{-7} a 10^{-6} por célula por generación. Esta tasa es mayor en los tejidos que experimentan una alta tasa de proliferación, una dinámica que puede aumentar la generación de células cancerígenas a partir de células madre afectadas. El **estrés oxidativo** (véase capítulo 45), generado como resultado de la producción mejorada de **especies reactivas de oxígeno** (**ROS**, *reactive oxygen species*), también puede ser un factor en el aumento de los niveles de mutación.

LA RADIACIÓN, LOS PRODUCTOS QUÍMICOS Y CIERTOS VIRUS SON LAS PRINCIPALES CAUSAS CONOCIDAS DE CÁNCER

En general, hay tres clases de carcinógenos ambientales que pueden provocar la formación de tumores: **radiación**, **productos químicos** y ciertos **virus oncógenos** (**figura 56-3**). Los dos primeros carcinógenos causan mutaciones en el DNA, mientras que los virus actúan generalmente mediante la introducción de nuevos genes en las células normales.

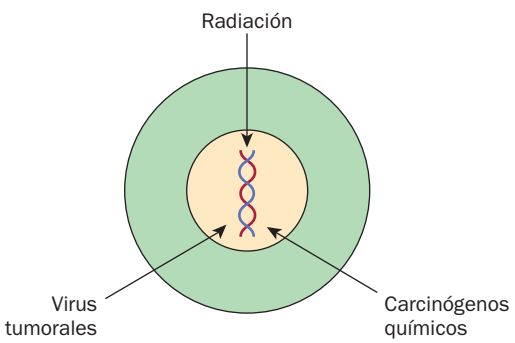


FIGURA 56-3 **La radiación, los carcinógenos químicos y ciertos virus pueden causar cáncer al dañar el DNA cromosómico.**

CUADRO 56-1 **Algunos tipos de daños al DNA causados por radiación**

- Formación de dímeros de pirimidina
- Formación de sitios apurínicos o apirimidínicos por eliminación de las bases correspondientes
- Formación de roturas de cadena simple o doble o eslabones cruzados de cadenas de DNA

Sólo describiremos brevemente cómo la radiación, los productos químicos y los virus oncogénicos causan cáncer.

La radiación puede ser cancerígena

Los rayos ultravioleta (**UV**, *ultraviolet rays*), los **rayos X** y los **rayos γ** son mutagénicos y carcinogénicos. Estudios exhaustivos han demostrado que estos agentes dañan el DNA de varias maneras (**cuadro 56-1**, véase también cuadro 35-8 y figura 35-22). Se cree que las mutaciones en el DNA, si no se corrigen, son la base del efecto carcinogénico de la **radiación**, aunque las vías exactas todavía están bajo investigación. Además, los rayos X y los rayos γ pueden provocar la formación de **especies reactivas de oxígeno** (**ROS**) que, como se indicó anteriormente, también son mutagénicas y probablemente contribuyen a los efectos carcinogénicos de la radiación.

La exposición a la radiación UV es común debido a la exposición a la luz solar, que es su fuente principal. Una amplia evidencia muestra que la radiación UV está vinculada a los cánceres de la piel. El riesgo de desarrollar un cáncer de piel debido a la radiación ultravioleta aumenta con el incremento de la frecuencia y la intensidad de la exposición, y disminuye al aumentar el contenido de melanina en la piel.

Como se detalla en el capítulo 35, el daño en el DNA producido por agentes ambientales se elimina generalmente mediante mecanismos de reparación del DNA. Entonces no sorprende que, dada la naturaleza mutagénica del daño en el DNA, las personas que tienen una incapacidad hereditaria para reparar el DNA tengan un mayor riesgo de desarrollar un tumor maligno (véase cuadro 35-9).

Muchos productos químicos son cancerígenos

Una gran variedad de compuestos químicos son cancerígenos (**cuadro 56-2**).

CUADRO 56-2 **Algunos carcinógenos químicos**

Clase	Compuesto
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Benzo [a] pireno, dimetilbenzantraceno
Aminas aromáticas	2-acetilaminofluoreno, *N*-metil-4-aminoazobenceno (MAB, methyl-4-aminoazobenzene)
Nitrosaminas	Dimetilnitrosamina, dietilnitrosamina
Varios fármacos	Agentes alquilantes (p. ej., ciclofosfamida), dietilestilbestrol
Compuestos naturales	Aflatoxina B_1

Nota: Como se mencionó más arriba, algunos medicamentos utilizados como agentes quimioterapéuticos (p. ej., ciclofosfamida) pueden ser cancerígenos.

Se cree que la mayoría de los **carcinógenos químicos modifican covalentemente el DNA**, formando así una amplia gama de **aductos de nucleótidos** (véase cuadro 35-8). Dependiendo de la extensión del daño al DNA y su reparación mediante los sistemas de reparación del DNA (véase figura 35-22), una variedad de mutaciones en el DNA puede ser resultado de la exposición de un animal o un humano a carcinógenos químicos, algunos de los cuales contribuyen al desarrollo del cáncer.

Algunos productos químicos interactúan directamente con el DNA (p. ej., mecloretamina y betapropiolactona), pero otros, denominados **procarcinógenos**, requieren conversión por acción enzimática para convertirse en **carcinógenos finales**. La mayoría de los carcinógenos finales son **electrófilos** (moléculas deficientes en electrones) y atacan fácilmente grupos nucleófilos (ricos en electrones) en el DNA. La conversión de sustancias químicas en carcinógenos finales se debe principalmente a las acciones de diversas especies de **citocromo P450** localizadas en el retículo endoplasmático (ER, *endoplasmic reticulum*) (véase capítulo 49). Este hecho se usa en el análisis de Ames (véase a continuación), en el cual se agrega una alícuota de sobrenadante posmitocondrial (que contiene ER) al sistema de análisis como fuente de las enzimas del citocromo P450.

La carcinogénesis química implica dos etapas: **iniciación** y **promoción**. La iniciación es la etapa en la que la exposición a un químico causa daños en el DNA genómico, algunos de los cuales no se reparan, y es un evento inicial necesario para que una célula se vuelva cancerígena. La promoción es la etapa en la cual una célula iniciada comienza a crecer y proliferar anormalmente. El efecto acumulativo de estos dos eventos es una neoplasia.

Los carcinógenos químicos se pueden identificar mediante la prueba de su capacidad para inducir mutaciones. Una forma simple de hacerlo es mediante el uso del **análisis de Ames** (figura 56-4). Esta prueba relativamente simple, que detecta mutaciones en la bacteria *Salmonella typhimurium* causadas por productos químicos, ha demostrado ser muy valiosa para fines de detección. La prueba de Ames puede mejorarse mediante la adición de una alícuota de ER de mamífero al análisis, para que sea posible identificar procarcinógenos. Se ha demostrado que muy pocos compuestos que han dado negativo, si alguno lo ha dado, en la prueba de Ames causan tumores en animales. Sin embargo, se requieren pruebas con animales para mostrar de forma inequívoca que un producto químico es cancerígeno.

Cabe señalar que los compuestos que alteran los factores epigenéticos (como la metilación del DNA y/o las modificaciones postranslacionales de histonas, véanse capítulos 35 y 38) que podrían predisponer al cáncer, no arrojarían resultados positivos en la prueba de Ames, ya que no son mutagénicos.

Ciertos cánceres humanos son causados por virus

El estudio de los **virus tumorales** ha contribuido significativamente a la comprensión del cáncer. Por ejemplo, el descubrimiento de oncogenes y genes supresores de tumores (véase más adelante) surgió de estudios de virus oncogénicos. Tanto los virus de DNA como los de RNA se han identificado como causantes de cánceres en humanos (**cuadro 56-3**). Los detalles de cómo cada uno de estos virus causa cáncer no se describirán aquí. En general, el material genético de los virus se incorpora al genoma de la célula huésped. En el caso de los virus de RNA, esto ocurriría después de la transcripción inversa del RNA viral al DNA viral. Dicha integración del DNA viral (denominado provirus) en el DNA del huésped produce

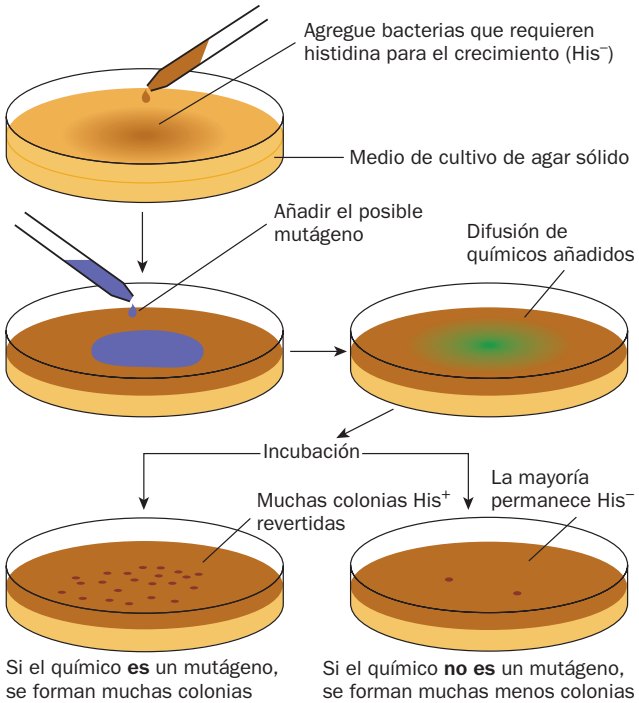


FIGURA 56-4 El análisis de Ames para detectar mutágenos. La sustancia química probada aumentará la frecuencia de reversión de células His^- a His^+ si es un mutágeno y, por tanto, un carcinógeno potencial. Una placa de control (no mostrada) contiene el disolvente en el que se disuelve el posible mutágeno. (Reproducido con permiso de Nester EW, *et al. Microbiology: A Human Perspective*. 5th ed. McGraw-Hill; 2007).

diversos efectos como la **desregulación del ciclo celular**, **la inhibición de la apoptosis** y las **anomalías de las rutas de señalización celular** (véanse capítulos 35 y 42). Todos estos eventos se discuten más adelante en este capítulo. Los **virus de DNA** actúan a menudo por **regulación negativa** de la expresión y/o función de los genes supresores de tumores *P53* y *RB* (véase más adelante) y sus productos proteicos. Los virus de RNA llevan a menudo oncogenes en sus genomas; más adelante se discute cómo actúan los oncogenes para causar un tumor maligno.

CUADRO 56-3 Algunos virus que causan o están asociados con cánceres humanos

Virus	Genoma	Cáncer
Virus de Epstein-Barr	DNA	Linfoma de Burkitt, cáncer nasofaríngeo, linfoma de células B
Hepatitis B	DNA	Carcinoma hepatocelular
Hepatitis C	RNA	Carcinoma hepatocelular
Herpesvirus humano 8 (HHV-8, *human herpesvirus 8*)	DNA	Sarcoma de Kaposi
Virus del papiloma humano (tipos 16 y 18)	DNA	Cáncer del cuello uterino
Virus de la leucemia de céluas T humanas tipo 1	RNA	Leucemia de células T en adultos

LOS ONCOGENES Y GENES SUPRESORES DE TUMORES DESEMPEÑAN UN PAPEL CLAVE EN LA CAUSA DEL CÁNCER

En las últimas décadas, se han logrado avances importantes en la comprensión de cómo las células cancerígenas se desarrollan y crecen. Dos descubrimientos clave fueron los de **oncogenes** y **genes supresores de tumores**. Estos descubrimientos apuntan a mecanismos moleculares específicos a través de los cuales el crecimiento y la división celular pueden ser desregulados, lo que resulta en un crecimiento anormal.

Los oncogenes se derivan de genes celulares denominados protooncogenes y codifican una amplia variedad de proteínas que estimulan el crecimiento celular

Un oncogén puede definirse como un gen alterado, cuyo producto actúa de manera dominante para acelerar el crecimiento celular o la división celular. Los oncogenes se generan por "activación" de **protooncogenes** celulares normales, que codifican proteínas estimulantes del crecimiento. Dicha activación puede efectuarse mediante cualquiera de varios mecanismos diferentes (**cuadro 56-4**).

CUADRO 56-4 Mecanismos por los cuales se activan los oncogenes

Mecanismo	Explicación
Mutación	Un ejemplo clásico es una mutación puntual del oncogén *RAS*. Esto da como resultado el producto génico, una pequeña proteína G (RAS), en la que se pierde la actividad intrínseca de GTPasa de la proteína. Por consiguiente, las células se someten a señalización constitutivamente activa a través de la estimulación de la adenilil ciclasa y la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAP, *mitogen-activated protein*).
Inserción del promotor	La inserción de una secuencia viral de promotor cerca de un oncogén lo activa.
Inserción del intensificador	La inserción de una secuencia viral de intensificador cerca de un oncogén lo activa.
Translocación cromosómica	Una parte de un cromosoma se divide y se une a otra, lo que resulta en la activación de un oncogén en el sitio donde se produce la inserción. Los ejemplos clásicos de tales translocaciones incluyen los que se observan en el linfoma de Burkitt (véase figura 56-5) y en el cromosoma Filadelfia en la leucemia mielocítica crónica (véase "Glosario").
Amplificación génica[a]	La multiplicación anormal de un gen ocurre, dando como resultado muchas copias. Esto puede suceder con oncogenes y genes implicados en la resistencia a los medicamentos.

[a] Las regiones de amplificación génica pueden reconocerse como regiones teñidas homogéneamente (HSR, *homogeneously stained regions*) en los cromosomas, o como cromosomas de doble minuto (que tienen una ubicación extracromosómica).

El cuadro 56-4 enumera un ejemplo de una mutación puntual que ocurre en el oncogen *RAS*, el cual codifica una pequeña GTPasa. La pérdida de la actividad de GTPasa de esta proteína G da como resultado la estimulación crónica de la adenilil ciclasa y la ruta MAP quinasa, lo que conduce a la proliferación celular (recuerde que las proteínas G son activas cuando forman un complejo con GTP e inactivas cuando el GTP unido se hidroliza a GDP por GTPasa, véase capítulo 42). Otra forma en que puede activarse un oncogén es a través de la inserción de un intensificador y/o un promotor fuerte corriente arriba de un gen codificador de proteína, dando como resultado una transcripción aumentada (y, por tanto, una expresión de proteína) del gen afín. La **figura 56-5A** ilustra cómo la integración de un provirus retroviral [es decir, la copia de dsDNA generada por la transcriptasa inversa del genoma de RNA de un virus tumoral como el **virus del sarcoma de Rous** (**RSV,** *Rous sarcoma virus*)] puede actuar como intensificador/promotor para activar *MYC*, un gen huésped vecino. La sobreproducción del factor de transcripción oncogénico MYC activa la transcripción de los genes reguladores del ciclo celular y, por tanto, estimula la proliferación celular no regulada.

Las **translocaciones cromosómicas** se encuentran con bastante frecuencia en las células cancerígenas; literalmente cientos de ejemplos diferentes han sido documentados. La translocación encontrada en los casos de linfoma de Burkitt se ilustra en la figura 56-5B. El efecto general de esta translocación es también la activación de la expresión del gen *MYC*, dando como resultado la proliferación celular.

Sin embargo, otro mecanismo de activación de oncogenes es a través de la **amplificación génica** (véase capítulo 38), un proceso que se produce con bastante frecuencia en varios cánceres. En este caso, se forman copias múltiples de un oncogén, lo que da como resultado una producción incrementada de una proteína estimuladora del crecimiento.

Los oncogenes activados estimulan el cáncer a través de una variedad de mecanismos como se muestra en la figura 56-2 y se resume en la figura 56-6. Los productos proteicos de los oncogenes activados afectan a las rutas de señalización celular, donde pueden actuar como un factor de crecimiento, un receptor para un factor de crecimiento, una proteína G o como una molécula señalizadora corriente abajo. Otras oncoproteínas actúan para alterar la transcripción de genes cruciales para la oncogénesis o para desregular el ciclo celular. Otras oncoproteínas afectan las interacciones célula-célula o el proceso de apoptosis. En conjunto, estos mecanismos explican muchas de las características principales de las células cancerígenas que se muestran en la figura 56-1, como su potencial de replicación ilimitado, sus rutas de señalización activadas constitutivamente, su capacidad de invadir y diseminarse, y su evasión de la apoptosis.

Ciertos **virus tumorales** (p. ej., retrovirus, papovavirus) **contienen oncogenes**. Fue el estudio de tales virus tumorales (p. ej., el retrovirus RSV) el primero que reveló la presencia de oncogenes. Un estudio adicional demostró que muchos oncogenes retrovirales se derivaban de genes celulares normales, los llamados protooncogenes, que los virus tumorales habían captado durante su paso a través de las células huésped.

Los genes supresores de tumores actúan para inhibir el crecimiento y la división celular

Un **gen supresor de tumores** produce una proteína que normalmente suprime el crecimiento celular o la división celular. Cuando dicho gen se altera por mutación, el efecto inhibidor de su producto se pierde o disminuye. Esta pérdida de función de un gen

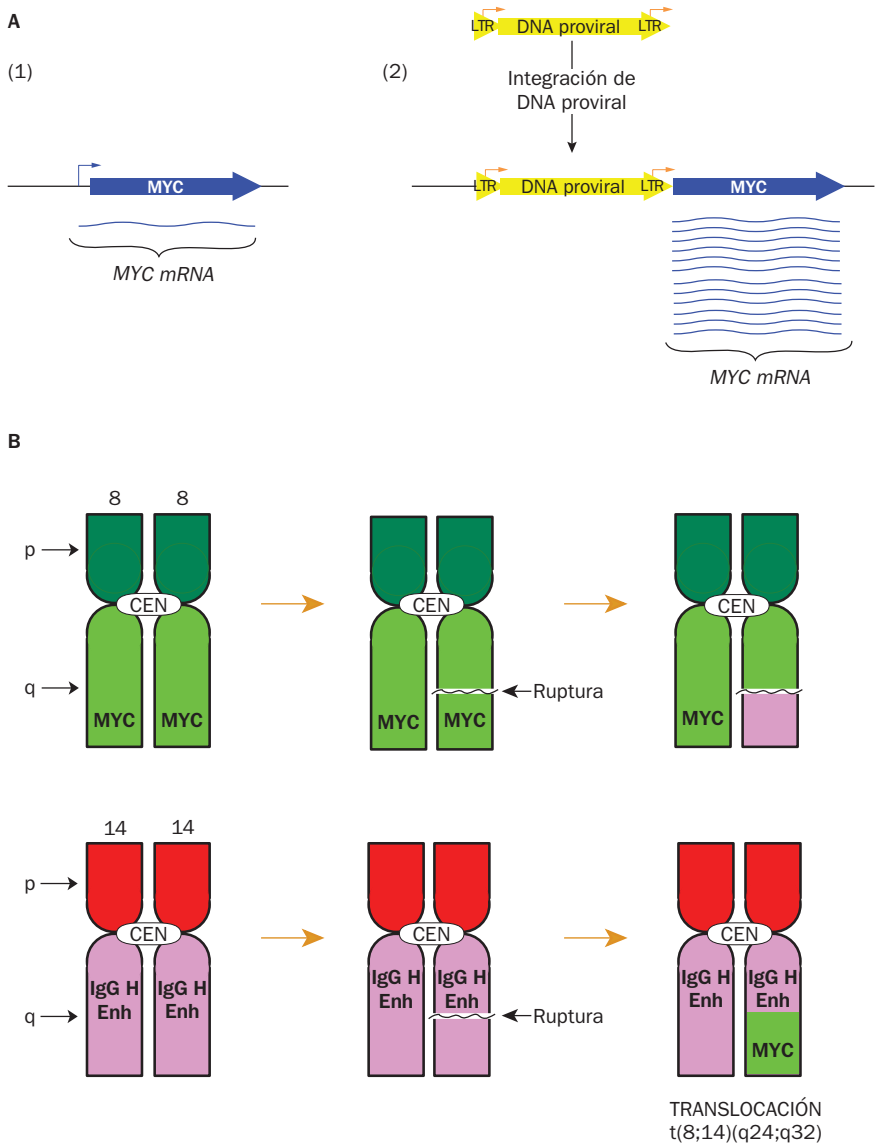


FIGURA 56-5 **A) Representación esquemática de cómo la inserción del promotor puede activar un protooncogén.** 1) Cromosoma de gallina normal que muestra un gen *MYC* casi inactivo. 2) Un virus de la leucemia aviar se ha integrado en el cromosoma en su forma proviral (una copia de DNA de su genoma de RNA) adyacente al gen *MYC* con el elemento de secuencia de repetición terminal larga derecha (LTR, *long terminal repeat*) del lado derecho de RSV, que contiene un fuerte intensificador y un promotor (véase capítulo 36) y ahora reside justo corriente arriba del gen *MYC* y, por tanto, activa *MYC*, dando como resultado una transcripción enérgica del mRNA *MYC*. Para simplificar, sólo se representa una hebra de DNA y se han omitido otros detalles. **B) Representación esquemática de la translocación recíproca involucrada en el linfoma de Burkitt.** Los cromosomas implicados son 8 y 14. Las letras p, q se refieren a los brazos cortos y largos de los cromosomas, mientras que el óvalo blanco, denominado CEN, es el centromere. Sólo se muestra una porción de cada cromosoma. Un segmento del extremo del brazo q del cromosoma 8 se rompe y se traslada al cromosoma 14. El proceso inverso mueve un pequeño segmento del brazo q del cromosoma 14 al cromosoma 8; estas translocaciones incluyen regiones q24 (cromosoma 8) y q32 (cromosoma 14). El gen *MYC* está contenido en la pequeña porción del cromosoma 8 que se transfirió al cromosoma 14. Por tanto, *MYC* se coloca adyacente a los genes que transcriben las cadenas pesadas de moléculas de inmunoglobulina, y la transcripción del gen *MYC* se activa mediante el potente intensificador génico IgG H. Se han identificado muchas otras translocaciones, siendo quizá la más conocida aquella que estaba implicada en la formación del cromosoma Filadelfia (véase "Glosario"). (Revisado y redibujado de Dalla-Favera, *et al*. El gen c-myc *onc* humano se encuentra en la región del cromosoma 8 que se transloca en células de linfoma de Burkitt. *Proc Nat Acad Sci USA* 1982;79:7824-7827, para más detalles).

supresor de tumores conduce a un aumento del crecimiento o la división celular. Como sugirió por primera vez AG Knudson en 1971, basado en los estudios sobre la herencia de los retinoblastomas, ambas copias de un gen supresor tumoral deben verse afectadas para que pierdan sus efectos inhibitorios sobre el crecimiento (es decir, un alelo mutado de pérdida de función, rb^- es recesivo a una copia RB de tipo silvestre del gen).

Se ha hecho una distinción útil entre las funciones **guardiana** y **cuidadora** de los genes supresores de tumores. Los genes guardianes (productos) controlan la proliferación celular e incluyen

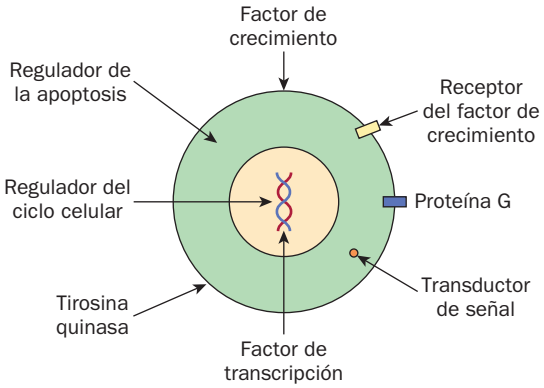


FIGURA 56-6 Ejemplos de formas en que funcionan las oncoproteínas. Se muestran ejemplos de diversas proteínas codificadas por oncogenes (oncoproteínas). Las proteínas se enumeran a continuación con el correspondiente oncogén entre paréntesis junto con su número OMIM. Un factor de crecimiento, factor de crecimiento de fibroblastos 3 (*INT2*,164950); un receptor del factor de crecimiento, receptor del factor de crecimiento epidérmico [EGFR, *epidermal growth factor receptor*] (*HER1*, 131550); una proteína G (*H-RAS-1*, 190020); un transductor de señal (BRAF, 164757); un factor de transcripción (MYC, 190080); una tirosina quinasa implicada en la adhesión célula-célula (*SRC*, 190090); un regulador del ciclo celular (*PRAD*, 168461); un regulador de la apoptosis (*BCL2*, 151430).

principalmente genes que actúan para regular el ciclo celular y la apoptosis. Por el contrario, los productos génicos cuidadores están relacionados con la preservación de la integridad del genoma, e incluyen genes cuyos productos proteicos están implicados en el reconocimiento y la corrección del daño del DNA y en el mantenimiento de la integridad cromosómica durante la división celular.

CUADRO 56-5 Diferencias entre oncogenes y genes supresores de tumores

Oncogenes	Genes supresores de tumores
La mutación en uno de los dos alelos es suficiente para producir efectos oncogénicos	Se requieren mutaciones en ambos alelos para producir efectos oncogénicos
El efecto oncogénico se debe a la ganancia de función de una proteína que estimula el crecimiento y la proliferación celular	El efecto oncogénico se debe a la pérdida de función de una proteína que inhibe el crecimiento y la proliferación celular
Las mutaciones en oncogenes surgen en células somáticas y, por tanto, no se heredan	Las mutaciones en los genes supresores de tumores pueden estar presentes en las células somáticas o germinales (y, por tanto, pueden ser heredadas)
Por lo general, no muestran preferencia tisular con respecto al tipo de cáncer en el que se encuentran	A menudo muestran una fuerte preferencia tisular con respecto al tipo de cáncer en el que se encuentran (p. ej., las mutaciones en el gen *RB* provocan retinoblastoma)

Fuente: Datos de Levine AJ. The p53 tumor suppressor gene. *N Engl J Med* 1992;326:1350.

CUADRO 56-6 Propiedades de algunos oncogenes y genes supresores de tumores importantes

Nombre	Propiedades
MYC	Un oncogén (OMIM 190080) que codifica un factor de transcripción que puede alterar la transcripción de muchos genes reguladores celulares clave. *MYC* participa en la estimulación del crecimiento celular, la progresión del ciclo celular y la replicación del DNA. Está mutado en una variedad de tumores.
P53	Un gen supresor de tumores (OMIM 191170) que se activa en respuesta a varios estímulos que producen daño en el DNA. La activación de p53 provoca la detención del ciclo celular, la apoptosis, la senescencia y la reparación del DNA. También está involucrado en algunos aspectos de la regulación del metabolismo celular. Por tanto, ha sido nombrado "el guardián del genoma". P53 está mutado en aproximadamente 50% de los tumores humanos.
RAS	Una familia de oncogenes que codifica proteínas G pequeñas, específicamente GTPasas que se identificaron inicialmente como genes de transformación presentes en ciertos virus del sarcoma murino. Los miembros importantes de la familia son *K-RAS* (Kirsten), *H-RAS* (Harvey) (OMIM 190020) y *N-RAS* (neuroblastoma). La activación persistente de estos genes debido a mutaciones contribuye al desarrollo de una variedad de cánceres.
RB	Un gen supresor de tumores (OMIM 180200) que codifica la proteína Rb, un represor de transcripción que regula el ciclo celular al unirse al factor de transcripción activador E2F. Rb reprime la transcripción de varios genes implicados en la transición de la fase G_1 del ciclo celular a la fase S. La mutación del gen *RB* da como resultado un retinoblastoma, pero también está involucrada en la génesis de otros tumores (véase capítulo 35).

Muchos oncogenes y genes supresores de tumores han sido identificados. Sólo unos pocos se mencionan aquí. Las diferencias importantes entre los oncogenes y los genes supresores de tumores se enumeran en el **cuadro 56-5**. El **cuadro 56-6** enumera algunas propiedades de dos de los oncogenes más intensamente estudiados (*MYC* y *RAS*) y dos de los genes supresores de tumores más estudiados (*P53* y *RB*).

Los estudios del desarrollo de cánceres colorrectales han esclarecido la participación de oncogenes específicos y genes supresores de tumores

Se han analizado muchos tipos de tumores para detectar cambios genéticos. Una de las primeras áreas estudiadas y de las más informativas en cuanto a esto ha sido el análisis del **desarrollo del cáncer colorrectal** por parte de Vogelstein y sus colegas. Su trabajo, y el de otros, han demostrado la participación de varios oncogenes y genes supresores de tumores en el cáncer humano. Estos trabajadores analizaron la secuencia y la expresión de diversos oncogenes, genes supresores de tumores y algunos otros genes relevantes en muestras de **epitelio colónico normal**, de **epitelio displásico** (una condición preneoplásica, caracterizada por el desarrollo anormal del epitelio),

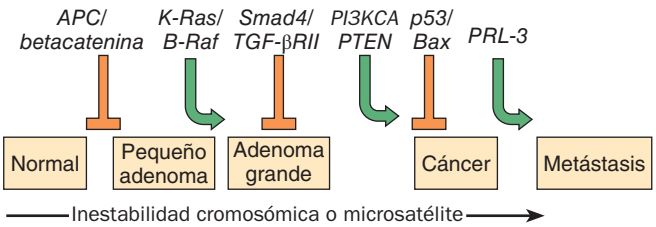


FIGURA 56-7 Cambios genéticos de múltiples pasos asociados con el desarrollo de cánceres colorrectales. Las mutaciones en el gen *APC* inician la formación de adenomas. Se indica una secuencia de mutaciones en un oncogén y en varios genes supresores de tumores que pueden dar como resultado una mayor progresión a adenomas grandes y cáncer. Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar (OMIM 175100) heredan mutaciones en el gen *APC* y desarrollan numerosos focos de criptas aberrantes displásicas (ACF, *aberrant crypt foci*), algunos de los cuales progresan a medida que adquieren las otras mutaciones indicadas en la figura. Los tumores de pacientes con cáncer de colon no polipósico hereditario (OMIM 120435) atraviesan una serie de mutaciones similares, aunque no idénticas; las mutaciones en el sistema de reparación del desajuste del DNA (véase capítulo 35) aceleran este proceso. Los K-RAS, BRAF y PI3KCA son oncogenes; los otros genes enumerados son genes supresores de tumores. La secuencia de eventos que se muestra aquí no es invariable en el desarrollo de todos los cánceres colorrectales. Se ha descrito una variedad de otras alteraciones genéticas en una pequeña fracción de cánceres colorrectales avanzados. Estos pueden ser responsables de la heterogeneidad de las propiedades biológicas y clínicas observadas entre diferentes casos. La inestabilidad de los cromosomas y los microsatélites (véase capítulo 35) ocurre en muchos tumores, y probablemente involucre mutaciones en un número considerable de genes. (Reproducido con autorización de Bunz F, Kinzler KW, Vogelstein B. *Colorectal tumors*, fig. 48-2, The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, www.ommbid.com).

varias etapas de **pólipos adenomatosos** y **adenocarcinomas**. Algunos de los hallazgos clave se resumen en la figura 56-7. Se puede ver que ciertos genes están mutados en etapas relativamente específicas de la secuencia de eventos mostrada. Las funciones de los diversos genes identificados se enumeran en el **cuadro 56-7**. La secuencia general de cambios puede variar respecto a la mostrada y otros genes también pueden estar involucrados. Se han realizado estudios similares en varios otros tumores humanos, que revelan diferentes patrones de activación de oncogenes y mutaciones de genes supresores de tumores. Otras mutaciones en estos y otros genes están implicadas en la **progresión tumoral**, un fenómeno por el cual los clones de células tumorales se seleccionan para una velocidad de crecimiento rápida y capacidad de metástasis. Por tanto, un tumor relativamente grande puede contener una variedad de células con diferentes genotipos, lo que dificulta el tratamiento exitoso.

Se pueden sacar varias conclusiones de estos resultados y los de otros estudios similares. Primero, **el cáncer es verdaderamente una enfermedad genética**, pero en un sentido algo diferente del significado normal de la frase, en la medida en que muchas de las alteraciones genéticas se deben a mutaciones somáticas. En segundo lugar, **la carcinogénesis es un proceso de varios pasos**. Se estima que en la mayoría de los casos deben mutar un mínimo de cinco a seis genes para que ocurra el cáncer. En tercer lugar, se cree que las mutaciones posteriores adicionales confieren ventajas selectivas a

CUADRO 56-7 Algunos genes asociados con la carcinogénesis colorrectal

Gen[a]	Acción de la proteína codificada
APC (OMIM 611731)	Antagoniza la señalización WNT[b]; si está mutado, se potencia la señalización de WNT, estimulando el crecimiento celular.
β-CATENIN (OMIM 116806)	Codifica la betacatenina, una proteína presente en las uniones adherentes, que son importantes para la integridad de los tejidos epiteliales. Es una parte integral de la ruta de señalización WNT.
K-RAS (OMIM 601599)	Involucrado en la señalización de la tirosina quinasa, especialmente en la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAP, *mitogen-activated protein*).
BRAF (OMIM 164757)	Una serina/treonina quinasa que actúa conjuntamente con Ras para activar la ruta MAP quinasa.
SMAD4 (OMIM 600993)	Involucrado en la señalización intracelular mediante la transformación del factor de crecimiento β (TGF-β[c], *transforming growth factor-β*[c]).
TGF-βRII	Actúa como un receptor para TGF-β.
PI3KCA (OMIM 171834)	Actúa como una subunidad catalítica de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K, *phosphatidylinositol 3-kinase*).
PTEN (OMIM 601728)	Una proteína tirosina fosfatasa que actúa como un importante inhibidor de la señalización a través de la ruta PI3K-Akt.
P53 (OMIM 191170)	El producto, p53, se induce en respuesta al daño al DNA y también es un factor de transcripción para muchos genes implicados en la división celular (véase capítulo 35, cuadro 56-10).
BAX (OMIM 600040)	Actúa para inducir la muerte celular (activador de la apoptosis).
PRL3 (OMIM 606449)	Una proteína tirosina fosfatasa implicada en la regulación del ciclo celular.

Abreviaturas: *APC* (*adenomatous polyposis coli gene*): gen de la poliposis coli adenomatosa; *BAX* (*BCL2-associated X protein*): codifica la proteína X asociada a BCL2 (BCL2 es un represor de la apoptosis); *BRAF*: el homólogo humano de un protooncogén aviar; *K-RAS* (*Kirsten-Ras-associated gen*) gen asociado a Kirsten-Ras; *PI3KCA*: codifica la subunidad catalítica de fosfatidilinositol 3-quinasa; *PRL3*: codifica una proteína tirosina fosfatasa con homología hacia PRL1, otra proteína tirosina fosfatasa que se encuentra en el hígado en regeneración; *PTEN*: codifica una proteína tirosina fosfatasa y un homólogo de tensina; *P53*: codifica p53, un polipéptido de masa molecular ~53 kDa; *SMAD4*: el homólogo de un gen encontrado en la *Drosophila*.

[a] Los *K-RAS*, *BRAF* y *PI3KCA* son oncogenes; los otros genes de ka mencionados son genes supresores de tumores o genes cuyos productos están asociados con las acciones de los productos de genes supresores de tumores.

[b] La familia WNT de glucoproteínas secretadas está involucrada en una variedad de procesos de desarrollo.

[c] El *TGF-β* es un polipéptido (un factor de crecimiento) que regula la proliferación y la diferenciación en muchos tipos de células.

Nota: Los diversos genes enumerados son oncogenes, genes supresores de tumores o genes cuyos productos están estrechamente relacionados con los productos de estos dos tipos de genes. Los efectos acumulativos de las mutaciones en los genes enumerados se producen para impulsar la proliferación de células epiteliales del colon y convertirse eventualmente en cancerígenas. Esto lo logran principalmente a través de los efectos sobre varias rutas de señalización que afectan la proliferación celular. Otros genes y proteínas que no se enumeran aquí están involucrados también. Este cuadro y la figura 56-7 ilustran claramente la importancia de un conocimiento detallado de la señalización celular para comprender la génesis del cáncer.

los clones de las células, algunos de los cuales adquieren la **capacidad de hacer metástasis** (véase más adelante). Finalmente, muchos de los genes implicados en la carcinogénesis colorrectal y otros tipos de cáncer están involucrados en eventos de señalización celular, lo que demuestra nuevamente el papel central que desempeñan **las alteraciones en la señalización** en el desarrollo del cáncer.

LOS FACTORES DE CRECIMIENTO Y LAS ANOMALÍAS DE SUS RECEPTORES Y VÍAS DE SEÑALIZACIÓN JUEGAN UN PAPEL IMPORTANTE EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER

Hay muchos factores de crecimiento

Se ha identificado una gran variedad de factores de crecimiento polipeptídicos que afectan a tejidos y células humanas. Algunos se enumeran en el **cuadro 56-8**. Aquí, nos enfocamos principalmente en su relación con el cáncer.

Los factores de crecimiento pueden actuar de manera **endocrina**, **paracrina** o **autocrina** (véase capítulo 41) y afectar una amplia variedad de células para producir una **respuesta mitogénica** (véase capítulo 42). Como se describió anteriormente (véase capítulo 53), los factores de crecimiento juegan un papel importante en la diferenciación de las células hematopoyéticas.

También hay **factores inhibidores del crecimiento**. Por ejemplo, el factor de crecimiento transformante β (TGF-β) ejerce efectos inhibidores sobre el crecimiento de ciertas células. Por tanto, la exposición crónica a cantidades aumentadas de un factor de crecimiento, o a cantidades reducidas de un factor inhibidor del crecimiento, puede alterar el equilibrio del crecimiento celular.

CUADRO 56-8 Algunos factores de crecimiento polipeptídicos

Factor de crecimiento	Función
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Estimula el crecimiento de muchas células epidérmicas y epiteliales
Eritropoyetina (EPO, *Erythropoietin*)	Regula el desarrollo de células eritropoyéticas tempranas
Factores de crecimiento de fibroblastos (FGF, *fibroblast growth factors*)	Estimula la proliferación de muchas células diferentes
Interleucinas	Las interleucinas ejercen una variedad de efectos sobre las células del sistema inmune
Factor de crecimiento nervioso (NGF, *nerve growth factor*)	Efecto trófico en ciertas neuronas
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Estimula el crecimiento de células mesenquimales y gliales
Factor de crecimiento transformante α (TGF-α)	Similar a EGF
Factor de crecimiento transformante β (TGF-β)	Ejerce efectos estimulantes e inhibidores sobre ciertas células

Nota: También se han identificado muchos otros factores de crecimiento. Estos pueden ser producidos por una variedad de células, o pueden tener principalmente una fuente. Se han aislado muchas interleucinas diferentes; junto con los interferones y algunas otras proteínas/polipéptidos, se denominan citocinas.

Los factores de crecimiento funcionan a través de receptores específicos y de señalización transmembrana para afectar las actividades de genes específicos

Los factores de crecimiento producen sus efectos al interactuar con **receptores específicos** en las superficies celulares, iniciando **varios eventos de señalización** (véase capítulo 42). Los genes que codifican los receptores para los factores de crecimiento se han identificado y caracterizado. Estos receptores tienen generalmente segmentos cortos que abarcan la membrana y dominios externos y citoplásmáticos (véanse capítulos 40, 42) y un número (p. ej., los del factor de crecimiento epidérmico [EGF, *epidermal growth factor*], la insulina y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas [PDGF, *platelet-derived growth factor*]) tienen actividad de **tirosina quinasa**. La actividad quinasa, localizada en los dominios citoplásmicos de estos receptores, provoca la autofosforilación de la proteína receptora y también fosforila otras proteínas.

La consideración del factor de crecimiento derivado de plaquetas, **PDGF**, ilustra cómo un factor de crecimiento particular produce sus efectos. La interacción de PDGF con su receptor estimula la actividad de la fosfolipasa C (PLC, *phospholipase C*). Esta divide el bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP_2, *phosphatidylinositol bisphosphate*) (que se encuentra en las membranas celulares biológicas) en trisfosfato de inositol (IP_3, *inositol trisphosphate*) y diacilglicerol (DAG, *diacylglycerol*) (véase figura 42-6). Los aumentos en los niveles de IP_3 dan como resultado niveles aumentados de Ca^{2+} intracelular, mientras que el DAG activa la proteína quinasa C (PKC, *protein kinase C*). La hidrólisis de DAG puede liberar ácido araquidónico, el cual puede estimular la producción de prostaglandinas y leucotrienos, cada uno de los cuales tiene diversos efectos biológicos. La exposición de las células blanco al PDGF puede dar lugar a una activación rápida (minutos a 1-2 h) de la expresión de los genes que codifican ciertos protooncogenes celulares (p. ej., *MYC* y *FOS*) que participan en la estimulación de la mitosis a través de efectos sobre el ciclo celular (véase más adelante). La conclusión es que los factores de crecimiento interactúan con receptores específicos para estimular vías de señalización específicas que sirven para aumentar o disminuir las actividades de varios genes que afectan la división celular.

ACTUALMENTE SE PIENSA QUE LOS MICRORNA SON ACTORES CLAVE EN LA CARCINOGÉNESIS Y LA METÁSTASIS TUMORAL

Los microRNA (miRNA), descubiertos en 1993, son moléculas de RNA que no codifican proteínas que tienen ~22 nucleótidos de largo (véanse capítulos 34, 36). Los miRNA se expresan en diferentes tipos de tejidos y células y se sabe que intervienen en la regulación de la expresión génica al disminuir la traducción del mRNA o la estabilidad del mRNA (véanse figuras 36-17).

Se ha descubierto que la expresión de miRNA está desregulada en muchos cánceres. Tal desregulación se cree que tiene un papel causal en la patogénesis de tales cánceres. Algunos tipos de miRNA son oncogénicos (denominados oncomiR) y se sobreexpresan en el tejido canceroso. Por otro lado, se descubrió que los miRNA supresores de tumores que contrarrestan las características oncogénicas están subexpresados en los cánceres; la similitud con los oncogenes y los supresores tumorales descritos anteriormente es

acertada. Los ejemplos de microRNA oncogénicos incluyen el conjunto de genes codificadores de miRNA policistrónicos miR-17-92 (implicado en cánceres de pulmón, mama, páncreas, colon, etc.); miR-21 (en cánceres de pulmón, mama, etc.); y miR-155 (en cáncer de pulmón y linfoma). Los ejemplos de microRNA de supresión tumoral incluyen let-7 (desregulado en cáncer de ovario y pulmón), miR-34 (implicado en varios tipos de cáncer), miR-15 y miR-16 (ambos implicados en la leucemia linfocítica crónica).

También se ha demostrado que los microRNA influyen en los factores extrínsecos que modulan los tumores. Estos incluyen interacciones entre el sistema inmune y las células cancerígenas, interacciones de células estromales, efecto en oncovirus, etc. Es probable que el equilibrio de niveles de expresión de proteínas resultantes de los miRNA exactos y sus concentraciones determine si el efecto neto de un miRNA específico es oncogénico o supresor tumoral.

El uso de miRNA en aplicaciones clínicas está ganando terreno. Los miRNA están siendo investigados como biomarcadores para el diagnóstico, pronóstico y clasificación del cáncer. Estos pequeños RNA también resultan prometedores en la terapia, donde los oligonucleótidos se usan para potenciar la expresión de los miRNA supresores de tumores en las células o se emplean oligonucleótidos antisentido para contrarrestar la acción de los miRNA oncogénicos. Se han desarrollado varios de estos productos terapéuticos que actúan en miRNA. Estos incluyen un imitador de miR-34, que ahora ha llegado a los ensayos clínicos. Curiosamente, un antimiR contra el miR-122 también se encuentra en ensayos clínicos para el tratamiento de la hepatitis.

Otra aplicación clínica importante de los miRNA radica en su capacidad de potenciar las respuestas terapéuticas durante la quimioterapia y la radioterapia contra el cáncer. Por tanto, el uso de miRNA como blancos específicos para el tratamiento y/o la suplementación terapéutica en el tratamiento del cáncer parece muy prometedor. Sin embargo, como con todas las terapias basadas en genes, la administración eficaz de oligonucleótidos estables a células blanco apropiadas constituye un desafío extremo. Sin embargo, se anticipan enormes avances en el desarrollo científico y farmacéutico en esta área en los próximos años, llevando a la práctica clínica un grupo de agentes terapéuticos nuevos y originales para el tratamiento de cánceres.

VESÍCULAS EXTRACELULARES Y CÁNCER

Las **vesículas extracelulares** [(**EV**, *extracellular vesicles*), alias exosomas y microvesículas] son un grupo de pequeñas vesículas con una bicapa lipídica que se liberan por una amplia gama de células, tanto normales como enfermas. Estas vesículas varían entre sí en cuanto a su tamaño y la manera en que se forman (véase figura 40-23). Conjuntamente, los RNA no codificantes (ncRNA, *noncoding RNA*) (que comprenden miRNA, RNA largos no codificantes [lncRNA, *long noncoding RNA*] y RNA circulares [circRNA, *circular RNA*]; véanse capítulos 34, 36) pueden cargarse en EV, que luego se secretan. Se ha demostrado que tales ncRNA asociados a EV ejercen efectos paracrinos en las células circundantes (véase figura 40-23), facilitando así la comunicación intercelular. Se ha demostrado que los EV transfieren información a las células blanco mediante mecanismos tales como la unión receptor-ligando, la fusión directa del EV con la membrana plasmática de las células receptoras, o mediante endocitosis. La transferencia de ncRNA de esta manera ha estado implicada en la patogénesis de varias enfermedades; el cáncer es una de esas afecciones, donde los estudios de laboratorio han demostrado que los EV pueden modular la expresión de genes cruciales que están implicados en la tumorogénesis.

Los efectos producidos por ncRNA en sus células blanco incluyen el control de la proliferación celular, la inducción de la angiogénesis, las alteraciones en el microambiente tumoral y la inmunidad tumoral, e incluso la inducción de la resistencia a los fármacos. También se ha demostrado que estos EV actúan sobre órganos distantes, afectando así la metástasis.

Los ncRNA asociados a EV son altamente estables. Se encuentran en la sangre, la orina y la saliva. Por tanto, tienen el potencial de ser utilizados como biomarcadores no invasivos para ayudar en el diagnóstico y pronóstico de cánceres. Además, debido a su pequeño tamaño y la constitución de su bicapa lipídica, los EV pueden atravesar fácilmente las membranas biológicas. Por consiguiente, los EV pueden usarse como sistemas de administración efectiva para transferir moléculas específicas (miRNA o antimiRNA) que pueden usarse en el tratamiento de la enfermedad. Se requerirá un trabajo *in vivo* adicional con sistemas modelo para explorar esta nueva y emocionante área de la oncología.

LOS MECANISMOS EPIGENÉTICOS ESTÁN INVOLUCRADOS EN EL CÁNCER

Cada vez hay más pruebas de que los mecanismos epigenéticos (véase capítulo 36) están involucrados en la causa del cáncer. Dichos mecanismos producen cambios no mutacionales que afectan la regulación de la expresión génica. La metilación de bases de citocina específicas en genes está implicada en actividades de desactivación de ciertos genes. Se han detectado cambios en el patrón normal de metilación/desmetilación de residuos de citocina en genes específicos en células cancerígenas. Las modificaciones de postraducción de histona (es decir, acetilación, ADP-ribosilación, metilación, fosforilación, sumoilación y ubiquitilación; véanse capítulos 35, 38), por ejemplo, cambios en la acetilación de las histonas H_3 y H_4, que afectan la transcripción génica, se han encontrado en células cancerígenas. Las mutaciones que afectan a la estructura y/o actividad de los complejos de remodelación del nucleosoma (es decir, el complejo SWI/SNF) implicados en la remodelación de la cromatina también pueden afectar la transcripción génica. De hecho, varios de los componentes de los complejos SWI/SNF pueden actuar como genes supresores de tumores.

Una cuestión de particular interés con respecto a los cambios epigenéticos en la expresión génica es que muchas de estas modificaciones de las proteínas y el DNA son potencialmente reversibles. En este sentido, la **5-azadesoxicitidina** y la **decitabina** son inhibidores de las **DNA metiltransferasas** (**DNMT**, *DNA methyltransferases*), mientras que el **ácido valproico** y el **vorinostat** actúan para inhibir las **histonas desacetilasas** (**HDAC**, *histone deacetylases*). Ambos agentes se han usado para tratar ciertos tipos de leucemias y linfomas y se cree que funcionan al desreprimir la transcripción de ciertos genes críticos reguladores del crecimiento, como los supresores tumorales. Es probable que el uso creciente de varias tecnologías -ómicas para estudiar los cambios epigenéticos en muchos tipos de cánceres aumente considerablemente el conocimiento en esta área, mientras se espera que impulse la lógica del nuevo desarrollo quimioterapéutico.

CUADRO 56-9 Algunas afecciones hereditarias del cáncer

Enfermedad	Gen	Función principal	Característica clínica principal
Poliposis adenomatosa del colon (OMIM 175100)	*APC*	Véase cuadro 56-7	Desarrollo de pólipos adenomatosos de inicio temprano, que son precursores inmediatos del cáncer colorrectal
Cáncer de mama 1, inicio temprano (OMIM 113705)	*BRCA1*	Reparación del DNA	Alrededor de 5% de las mujeres con cáncer de mama en América del Norte tienen mutaciones en este gen o en *BRCA2*. También aumenta sustancialmente el riesgo de cáncer de ovario
Cáncer de mama 2, inicio temprano (OMIM 600185)	*BRCA2*	Reparación del DNA	Como se indicó anteriormente para *BRCA1*. Las mutaciones en este gen también aumentan el riesgo de cáncer de ovario, pero en menor medida
Cáncer hereditario no poliposo, tipo I (OMIM 120435)	*MSH2*	Reparación del desajuste del DNA	Aparición temprana de cánceres colorrectales
Síndrome de Li-Fraumeni (OMIM 151623)	*P53*	Véase cuadro 56-6	Un síndrome raro que involucra cánceres en diferentes sitios, desarrollándose a una edad temprana
Neurofibromatosis, tipo 1 (OMIM 162200)	*NF1*	Codificación de la neurofibromina	La presentación varía desde la presencia de algunas manchas tipo café con leche hasta el desarrollo de miles de neuro-fibromas
Retinoblastoma (MIM 180200)	*RB1*	Véase cuadro 56-6	Retinoblastoma hereditario o esporádico[a]

[a] En el retinoblastoma hereditario, un alelo está mutado en la línea germinal, y sólo requiere una mutación posterior para la formación de un tumor. En el retinoblastoma esporádico, ninguno de los dos alelos está mutado al nacer, por lo que se requieren mutaciones posteriores en ambos alelos para que se desarrolle un tumor. También se han identificado muchas otras afecciones de cáncer hereditario.

VARIOS CÁNCERES MUESTRAN UNA PREDISPOSICIÓN HEREDITARIA

Se sabe desde hace muchos años que ciertos cánceres tienen una base hereditaria. Dependiendo del tipo específico de cáncer, se ha estimado que de 5 a 15% de los cánceres tienen una etiología hereditaria. El descubrimiento de oncogenes y genes supresores de tumores ha permitido investigar la base de este fenómeno. Muchos tipos hereditarios de cáncer han sido reconocidos actualmente; algunos de estos se enumeran en el **cuadro 56-9**. En una serie de casos, donde se sospecha un síndrome hereditario, el diagnóstico genético adecuado de las familias ha permitido realizar intervenciones tempranas. Por ejemplo, algunas mujeres jóvenes que han heredado un gen mutado *BRCA1* o *BRCA2* han optado por mastectomías profilácticas para prevenir la aparición de cáncer de mama en etapas posteriores de la vida.

LAS ANORMALIDADES DEL CICLO CELULAR SON OMNIPRESENTES EN LAS CÉLULAS CANCERÍGENAS

El conocimiento del ciclo celular es necesario para comprender los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de muchos tipos de cáncer. También es importante porque muchos medicamentos contra el cáncer actúan sólo contra las células que se dividen, o en una determinada fase del ciclo.

Los aspectos básicos del ciclo celular se describieron en el capítulo 35. Como se muestra en la figura 35-20, el ciclo tiene cuatro fases: G_1, *S*, G_2 y *M*. Si las células no están en una de estas fases, se dice que están en la fase G_0 y se denominan quiescentes. Las células pueden ser reclutadas en el ciclo de G_0 por diversas influencias (p. ej., ciertos factores de crecimiento). Las células cancerígenas tienen generalmente un tiempo de generación más corto que las células normales, y hay menos de ellas en la fase G_0 inactiva.

Las funciones de varias **ciclinas**, **quinasas dependientes de ciclina** (**CDK**, *cyclin-dependent kinases*) y otras moléculas importantes que afectan el ciclo celular (p. ej., los productos proteicos de los genes *RB* y *P53*) también se describieron en el capítulo 35. Los puntos en el ciclo, en el que algunas de estas moléculas actúan, se indican en las figuras 35-20, 35-21 y en el cuadro 35-7.

Debido a que una propiedad importante de las células cancerígenas es el crecimiento incontrolado, muchos aspectos de su ciclo celular se han estudiado a una profundidad considerable. Sólo unos pocos resultados se pueden mencionar aquí. Se ha informado de una variedad de mutaciones que afectan a las ciclinas y a las CDK. Muchos productos de protooncogenes y genes supresores de tumores desempeñan un papel importante en la regulación del ciclo celular normal. Se ha encontrado una gran variedad de mutaciones en estos tipos de genes, incluyendo *RAS*, *MYC*, *RB*, *P53* (que se encuentran entre los más estudiados, véase más adelante) y muchos otros.

Por ejemplo, como se discutió en el capítulo 35, el producto proteico del gen RB es un regulador del ciclo celular. Actúa uniéndose a un factor de transcripción E2F, bloqueando así la transcripción de los genes requeridos para la progresión de la célula de la fase G1 a la fase S. La pérdida inducida por la mutación de la función de la proteína RB elimina así este elemento de control del ciclo celular.

Cuando se produce daño al DNA (por radiación o productos químicos), la proteína p53 aumenta en cantidad y activa la transcripción de genes que retrasan el tránsito a través del ciclo. Si el daño es demasiado grave para repararlo, p53 activa los genes que causan la apoptosis (véase más adelante, y figura 35-23). Si p53 está ausente o inactiva debido a mutaciones, la apoptosis no ocurre y las células con DNA dañado persisten, convirtiéndose potencialmente en progenitoras de células cancerígenas.

LA INESTABILIDAD GENÓMICA Y LA ANEUPLOIDÍA SON CARACTERÍSTICAS IMPORTANTES DE LAS CÉLULAS CANCERÍGENAS

Como se mencionó anteriormente y también más adelante en este capítulo, los genomas de células cancerígenas tienen muchas mutaciones. Una posible explicación para su **inestabilidad genómica** es que tienen un **fenotipo mutador**. La idea de los fenotipos muta-

dores fue originalmente postulada por Loeb y sus colegas, quienes argumentaron que los fenotipos mutadores eran causados por células cancerígenas que tenían mutaciones adquiridas en genes implicados en la replicación y en la reparación del DNA, permitiendo así que se acumularan las mutaciones. El concepto se amplió más tarde para incluir mutaciones que afectan la segregación cromosómica, la vigilancia del daño en el DNA y procesos como la apoptosis. Cada vez hay más evidencia que sugiere que estos mecanismos diversos, denominados errores en las funciones de replicación del genoma, contribuyen a una gran parte de los cánceres.

El término inestabilidad genómica se usa con frecuencia para referirse a dos anomalías que muestran muchas células cancerígenas, **microsatélite** e **inestabilidad cromosómica** (**CIN**, *chromosomal instability*). La **inestabilidad de los microsatélites** se describió brevemente en el capítulo 35. Implica la expansión o contracción de secuencias de DNA de microsatélites, generalmente debido a anomalías en la reparación del desajuste o en el deslizamiento de la replicación. La CIN ocurre con más frecuencia que la inestabilidad de microsatélites, y los dos son a menudo mutuamente excluyentes. La CIN hace referencia a la ganancia o pérdida de cromosomas causada por anomalías de la segregación cromosómica durante la mitosis.

Otra área de interés con respecto a CIN es la **variación del número de copias** (**CNV**, *copy number variation*) (véase "Glosario", capítulo 39). Se han identificado asociaciones de varias CNV con muchos cánceres, y se están investigando sus roles precisos en el cáncer.

Un aspecto importante de CIN es la **aneuploidía**, una característica muy común de los tumores sólidos. La aneuploidía existe cuando el número cromosómico de una célula no es múltiplo del número haploide. El grado de aneuploidía se correlaciona a menudo con un mal pronóstico. Esto ha sugerido que las anomalías de la segregación cromosómica pueden contribuir a la progresión tumoral al aumentar la diversidad genética. Algunos científicos creen que la aneuploidía es un aspecto fundamental del cáncer.

Muchas investigaciones apuntan a determinar la base de la CIN y la aneuploidía. Como se muestra en la **figura 56-8**, una serie de procesos diferentes están implicados en la segregación cromosómica normal. Cada proceso es complejo e involucra varios organelos y muchas proteínas individuales. Se debe consultar un libro de texto de biología celular para obtener detalles sobre el proceso de segregación cromosómica y división celular. Se están realizando estudios para comparar estos procesos en células normales y tumorales, y para determinar cuáles de las diferencias detectadas pueden contribuir a la CIN y la aneuploidía. Una esperanza de esta línea de investigación es que podría ser posible desarrollar medicamentos que disminuyan o incluso eviten la CIN y la aneuploidía.

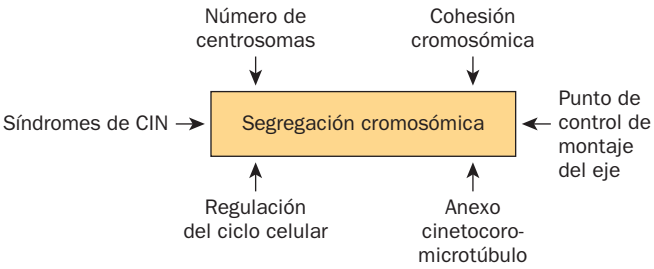


FIGURA 56-8 Factores implicados en la segregación cromosómica, que son relevantes para comprender la inestabilidad cromosómica (CIN) y la aneuploidía. Los síndromes de CIN incluyen el síndrome de Bloom (OMIM 210900) y otros. (Basado en Thompson SL, *et al*. Mechanisms of chromosomal instability. *Curr Biol* 2010;20(6):R285).

MUCHAS CÉLULAS CANCERÍGENAS MUESTRAN NIVELES ELEVADOS DE ACTIVIDAD DE LA TELOMERASA

Ha habido un considerable interés en la participación de los telómeros en una serie de enfermedades y también en el envejecimiento (véanse capítulos 35 y 57). Con respecto al cáncer, cuando las células tumorales se dividen rápidamente, sus telómeros a menudo se acortan. Tales telómeros acortados se han implicado como un factor de riesgo para muchos, pero no todos, los tumores sólidos (p. ej., cáncer de mama). Los **telómeros cortos** parecen tener un valor predictivo con respecto a la progresión de las enfermedades inflamatorias crónicas (como la colitis ulcerosa y el esófago de Barrett) al cáncer. Las anomalías de la estructura y función de los telómeros pueden contribuir a la CIN (véase arriba). La actividad de la telomerasa, la enzima principal implicada en la síntesis y, por tanto, el mantenimiento de la longitud de los telómeros, es muy baja en las células somáticas normales, pero con frecuencia es elevada en las células cancerígenas, proporcionando un mecanismo para superar el acortamiento de los telémeros. Por tanto, la inhibición de la actividad de la telomerasa representa un objetivo interesante de la quimioterapia contra el cáncer, ya que la mayoría de las células cancerígenas exhiben una actividad elevada de esta enzima, a diferencia de las células somáticas normales que muestran una actividad muy baja. Sin embargo, cualquier inhibidor de este tipo también afectaría negativamente a las células madre normales (una clase ubicua de células esenciales que se encuentran en la mayoría de los tipos de tejidos y que requieren una actividad de la telomerasa para su función regenerativa). Esta es una gran limitación para tal enfoque. Sin embargo, el Imetelstat (GRN163L) es uno de esos agentes que ha llegado a los ensayos clínicos. El tiempo dirá si la telomerasa es un objetivo efectivo para la quimioterapia.

LAS CÉLULAS CANCERÍGENAS TIENEN ANOMALÍAS DE APOPTOSIS QUE PROLONGAN SU CAPACIDAD PROLIFERATIVA

La **apoptosis** es un programa genéticamente dirigido que, cuando se activa, **causa la muerte celular**. Las principales proteínas implicadas en la apoptosis son enzimas proteolíticas denominadas **caspasas** que normalmente existen en formas inactivas, las **procaspasas**. El nombre de caspasa se deriva del hecho de que estas enzimas utilizan una cisteína de sitio activo para escindir cadenas polipeptídicas inmediatamente después de los residuos aspárticos. Se conocen alrededor de 15 caspasas humanas, aunque no todas participan en la apoptosis. Cuando se activan las implicadas en la apoptosis (principalmente las caspasas 2, 3, 6, 7, 8, 9 y 10), participan en una **cascada** de eventos (compárese con la cascada de coagulación, capítulo 55) que finalmente mata células al digerir varias proteínas y otras moléculas. Las **caspasas corriente arriba** (p. ej., 2, 8 y 10) al comienzo de la cascada se llaman a menudo **iniciadores**, y aquellas corriente abajo al final de la ruta (caspasas 3, 6 y 7) se denominan **efectores** o **verdugos**. Una **DNasa activada por caspasa** (CAD, *caspase-activated DNase*) fragmenta el DNA, produciendo de ese modo un patrón característico de escalamiento del DNA que se detecta fácilmente mediante electroforesis en gel nativa. Las características microscópicas de la apoptosis incluyen condensación de cromatina, cambios de forma nuclear y formación de ampollas en la membra-

na. Las células muertas resultantes se eliminan rápidamente por actividad fagocítica, evitando una reacción inflamatoria.

La apoptosis difiere de la **necrosis**, una forma patológica de muerte celular que no está genéticamente programada. La necrosis ocurre cuando hay exposición a agentes externos, como ciertos productos químicos y calor extremo (p. ej., quemaduras). Varias enzimas hidrolíticas (proteasas, fosfolipasas, nucleasas, etc.) están involucradas en la necrosis. La liberación del contenido celular de las células que mueren puede causar inflamación local, a diferencia de la apoptosis.

El proceso general de la apoptosis es complejo y está estrictamente regulado. La ruta reguladora apoptótica implica proteínas que actúan como receptores y adaptadores, procaspasas y caspasas, y factores pro y antiapoptóticos. Existen dos rutas principales, la **extrínseca** (receptor de la muerte) y la **intrínseca**, siendo las **mitocondrias** participantes importantes en esta última ruta. La figura 56-9 muestra un diagrama simplificado de algunos de los eventos clave en la apoptosis.

Las características principales de la **ruta del receptor de la muerte** se muestran en el lado izquierdo de la figura. Las **señales externas** que inician la apoptosis incluyen el factor de necrosis tumoral α (TNF-α) y el ligando Fas. Se han identificado varios receptores de la muerte. Estos son proteínas transmembrana, algunas de las cuales interactúan con **proteínas adaptadoras** [como proteína asociada a Fas con dominio de la muerte (FADD, *Fas-associated protein with death domain*)]. Estos complejos a su vez interactúan con

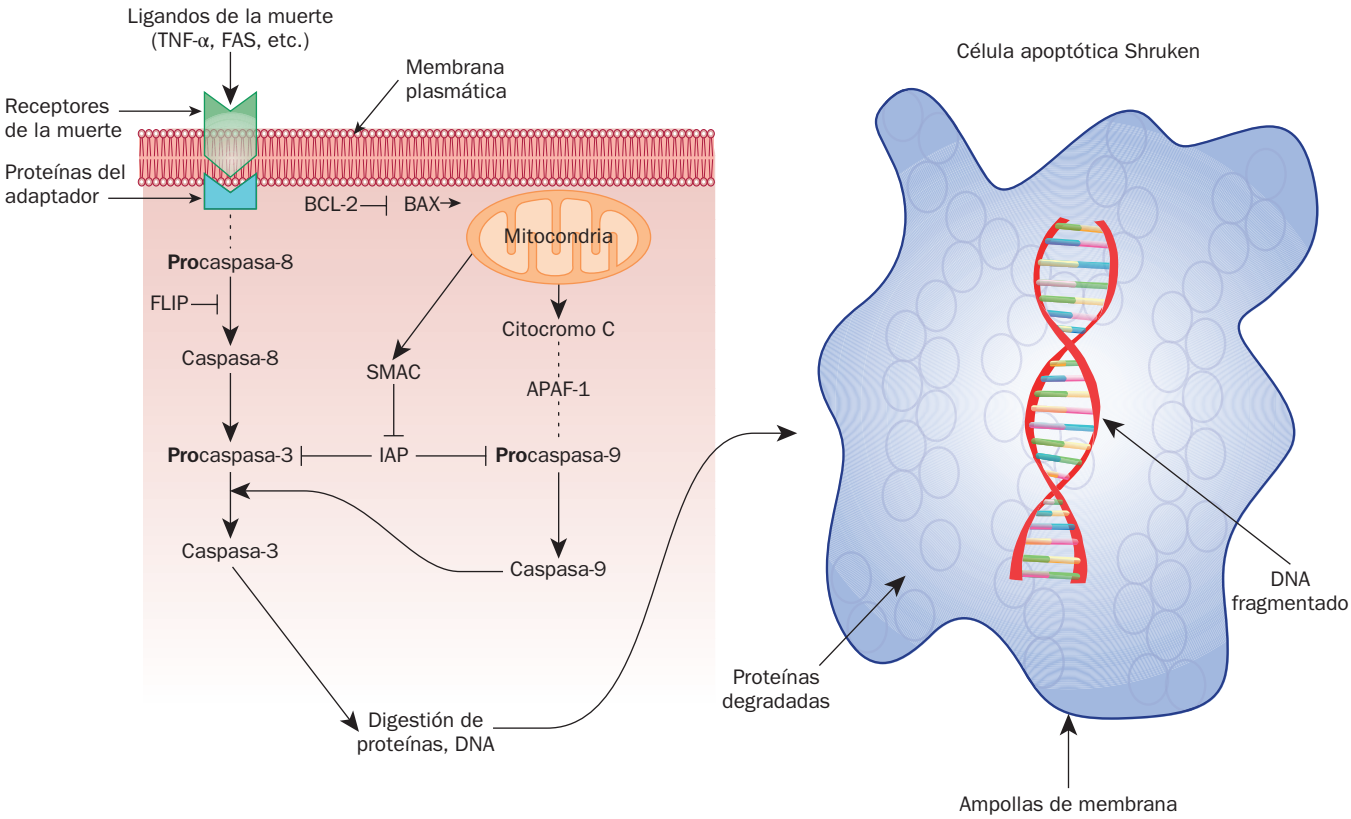


FIGURA 56-9 Esquema simplificado de la apoptosis. Los principales eventos moleculares en la ruta extrínseca. Las señales de la muerte incluyen TNF-α y FAS (presentes en la superficie de los linfocitos y algunas otras células). Las señales (ligandos) interactúan con receptores de muerte específicos (hay varios de ellos) a la izquierda. El receptor activado interactúa luego con una proteína adaptadora (FADD es una de ellas), y luego forma un complejo con la procaspasa 8. (El complejo está indicado por los... entre el receptor y la procaspasa-8 en la figura). A través de una serie de pasos adicionales, se forma la caspasa-3 activa, que es un efector principal (verdugo) del daño celular. La regulación de la ruta extrínseca puede ocurrir debido al efecto inhibidor de FLIP en la conversión de procaspasa-8 en caspasa-8, y también al efecto inhibidor de IAP en la procaspasa-3. Los principales eventos celulares en la vía intrínseca (mt). Diversas tensiones celulares afectan la permeabilidad de la membrana externa de mt, lo que da como resultado la salida del citocromo c hacia el citoplasma. Esto forma un complejo multiproteico con APAF-1 y la procaspasa-9, llamado apoptosoma. A través de estas interacciones, la procaspasa-9 se convierte en la caspasa-9. Esto, a su vez, puede actuar sobre la procaspasa-3 para convertirla a su forma activa. La regulación de la ruta intrínseca puede ocurrir a nivel de BAX, lo que facilita el aumento de la permeabilidad mitocondrial que permite el flujo de salida del citocromo c y, por tanto, es proapoptótico. El BCL-2 se opone a este efecto de BAX y, por tanto, es antiapoptótico. El IAP también inhibe la procaspasa-9, y este efecto del IAP puede ser superado por el SMAC. (APAF-1 (*apoptotic protease activating factor-1*): factor de activación de la proteasa apoptótica-1; BAX: proteína de X asociada a BCL-2; BCL-2 (*B-cell CLL/lymphoma 2*): CLL/linfoma 2 de células B [CLL (*chronic lymphatic leukemia*) representa leucemia linfática crónica]; FADD (*FAS-associated via death domain*): FAS asociado a través del dominio de muerte; FAS (*FAS antigen*): antígeno FAS; FLICE (*FAD-like ICE*): ICE semejante a FADD; FLIP (*FLICE inhibitory protein*): proteína inhibidora de FLICE; IAP (*inhibitor of apoptosis proteins*): inhibidor de las proteínas de la apoptosis; ICE (*interleukin-1-β convertase*): interleucina-1-β-convertasa; SMAC (*second mitochondria-derived activator of caspase*): segundo activador de la caspasa derivado de las mitocondrias), significa que se opone a la acción de.

procaspasa-8, lo que da como resultado su conversión a **caspasa-8** (un iniciador). La **caspasa-3** (un efector) se activa a través de una serie de reacciones adicionales. Digiere proteínas estructurales importantes como la lamina (asociada a la condensación nuclear), varias proteínas del citoesqueleto y las enzimas implicadas en la reparación del DNA, causando la muerte celular.

La regulación de esta vía ocurre en varios niveles. La **FLIP** inhibe la conversión de procaspasa-8 a su forma activa. Los **inhibidores de la apoptosis** (**IAP**, *inhibitors of apoptosis*) inhiben la conversión de procaspasa-3 a su forma activa. Estos efectos pueden ser superados por la proteína **SMAC** (segundo activador de la caspasa derivado de mitocondrias), que se libera de las mitocondrias.

La **ruta mitocondrial** puede iniciarse por exposición a especies reactivas de oxígeno, daño al DNA y otros estímulos. La iniciación da como resultado la formación de poros en la membrana mitocondrial externa, a través de los cuales el **citocromo C** escapa hacia el citoplasma. En el citoplasma, el citocromo C interactúa con **APAF-1**, **procaspasa-9** y **ATP** para formar un complejo multiproteico conocido como **apoptosoma**. Como resultado de esta interacción, la **procaspasa-9** se convierte a su forma activa y, a su vez, actúa sobre la **procaspasa-3** para producir **caspasa-3**.

La activación del **gen** *p53* regula positivamente la transcripción de ***BAX***. La proteína **BAX** es proapoptótica; causa la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, lo que ayuda a iniciar la ruta apoptótica mitocondrial. Por otro lado, **BCL-2** inhibe esta pérdida de potencial de membrana y, por tanto, es antiapoptótico. Los IAP inhiben la conversión de procaspasa-9 a caspasa-9; el **SMAC** puede superar esto. Tenga en cuenta que la ruta de la muerte utiliza **caspasa-8** como iniciador, mientras que la vía mitocondrial utiliza **caspasa-9**. Estas dos rutas pueden interactuar. Además, también hay otras rutas de apoptosis, que no se tratan aquí.

Las células cancerígenas evaden la apoptosis

Las células cancerígenas han desarrollado mecanismos para evadir la apoptosis, y así continuar creciendo y dividiéndose. En general, estos mecanismos implican mutaciones que causan la pérdida de la función de proteínas que son proapoptóticas, o la sobreexpresión de genes antiapoptóticos. Uno de esos ejemplos se refiere a la pérdida de función del gen *P53*, quizás el gen más comúnmente mutado en cánceres. La pérdida resultante de la regulación positiva de la transcripción de *BAX* proapoptótico (véase más arriba) desplaza el equilibrio a favor de las proteínas antiapoptóticas. La sobreexpresión de muchos genes antiapoptóticos es un hallazgo frecuente en cánceres. La consiguiente evasión de la apoptosis favorece el crecimiento continuo de las células cancerígenas. Se están haciendo intentos para desarrollar medicamentos que activen específicamente la apoptosis en las células cancerígenas, poniendo fin a su vida.

Como se indicó antes, la apoptosis es una ruta compleja altamente regulada con numerosos participantes, muchos de los cuales no se mencionan aquí en esta explicación abreviada. La apoptosis también está involucrada en diversos procesos evolutivos y fisiológicos. Puede parecer paradójico, pero la muerte celular regulada es tan importante para mantener la salud como lo es la formación de nuevas células. Además del cáncer, la apoptosis está implicada en otras enfermedades, incluyendo ciertos trastornos neurológicos crónicos y autoinmunes, como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, donde la **muerte celular excesiva** (en lugar del crecimiento excesivo) es una característica. El **cuadro 56-10** resume algunas de las principales características de la apoptosis.

CUADRO 56-10 Resumen de algunas características importantes de la apoptosis

- Implica una serie de eventos genéticamente programados y difiere de la necrosis, que es el resultado del daño celular directo.
- La serie de eventos celulares involucrados es una cascada, similar al proceso de coagulación sanguínea.
- Se caracteriza por encogimiento celular, formación de ampollas en la membrana, ausencia de inflamación y un patrón de electroforesis distintivo (escalera) de DNA degradado.
- Muchas caspasas (proteinasas) están involucradas; algunas son iniciadoras y otras actúan como efectoras (verdugos).
- La apoptosis puede ocurrir ya sea por rutas extrínsecas (mediadas por el receptor de la muerte) o intrínsecas (mitocondriales).
- El FAS y otros receptores están implicados en la ruta extrínseca de la apoptosis.
- El estrés celular y otros factores activan la ruta intrínseca (mitocondrial) de la apoptosis; la liberación de citocromo c en el citoplasma es un evento importante en esta ruta.
- La apoptosis está regulada por un equilibrio entre los inhibidores (factores antiapoptóticos) y los activadores (factores proapoptóticos) del proceso.
- Las mutaciones adquiridas que se encuentran en las células cancerígenas les permiten evadir la apoptosis, estimulando así la proliferación celular.

Efectos proinflamatorios y estimuladores de la necrosis tumoral

A diferencia de la apoptosis, la necrosis del tejido da como resultado la liberación de contenidos intracelulares en el microambiente circundante. Estos incluyen moléculas que sirven como mediadores de la respuesta proinflamatoria y dan como resultado la infiltración de tejido por células inmunoinflamatorias. Se ha demostrado que tales células pueden tener efectos activos promotores de tumores. Se ha informado que las células inmunoinflamatorias promueven la angiogénesis, la proliferación celular y la invasividad. La necrosis, que parece contrarrestar la tendencia proliferativa de las células cancerígenas, puede, paradójicamente, beneficiar la tumorogénesis. Por tanto, los tumores en desarrollo parecen ganar por tolerancia a cierto grado de necrosis celular, porque esto da como resultado el reclutamiento de células inflamatorias que finalmente suministran a las células tumorales con factores estimuladores del crecimiento a través de la angiogénesis.

EL MICROAMBIENTE TUMORAL JUEGA UN PAPEL CRÍTICO EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER, LA METÁSTASIS Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

El microambiente tumoral (TME, *tumor microenvironment*) consiste no sólo en células cancerígenas, sino también en una variedad de células no cancerígenas y componentes de la matriz extracelular. Las complejas interacciones intercelulares y estromales que se producen en el TME juegan un papel importante en la proliferación, supervivencia, propagación (metástasis) y respuesta al tratamiento de las células cancerígenas. Las principales células no cancerígenas presentes en el TME incluyen las del sistema inmune (linfocitos T y

B, células asesinas naturales y macrófagos) y células mesenquimales (células madre, miofibroblastos, células endoteliales y adipocitos).

Aunque una variedad de células inmunes infiltran tumores, sus funciones efectoras antitumorales se atenúan en respuesta a señales derivadas de tumores. Además, los linfocitos T y los macrófagos se reprograman (p. ej., mediante la activación sostenida del factor nuclear kappa B [NF-κB, *nuclear factor kappa B*]; véase figura 42-10) para estimular el crecimiento y la supervivencia del tumor. Esto permite que las células cancerígenas escapen a la vigilancia inmune y también involucra al sistema inmune para acelerar la progresión del cáncer. Una mayor comprensión del papel de las células inmunes en el TME en la conducción de la carcinogénesis ha abierto una nueva e importante ruta de tratamiento del cáncer llamada inmunoterapia (que se analizará con mayor detalle más adelante en este capítulo).

Se sabe que las células mesenquimales, como los miofibroblastos y las células madre mesenquimales, facilitan la formación de nichos de células madre cancerígenas, ayudando así a la supervivencia y proliferación de las células madre cancerígenas. Otras células mesenquimales, como las células endoteliales, responden a las señales paracrinas en el TME (p. ej., factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF, *vascular endothelial growth factor*]) al estimular la angiogénesis y la metástasis tumoral. Los adipocitos en el TME secretan una serie de factores de crecimiento que favorecen el crecimiento tumoral. Además, la matriz extracelular del TME también contribuye a la progresión tumoral al facilitar la formación de nichos de células madre cancerígenas, ayudando a la invasión tumoral y la metástasis. La **figura 56-10** muestra los constituyentes típicos del TME.

En general, es importante tener en cuenta que los tumores no son simplemente una colección de células cancerígenas; una variedad de diferentes tipos de células, que consisten en células transformadas y no transformadas, constituyen un tumor típico. Comprender las interacciones complejas entre estas células y su microambiente es un aspecto importante de la investigación en curso sobre el cáncer.

LAS CÉLULAS CANCERÍGENAS MUESTRAN UNA PROGRAMACIÓN METABÓLICA ALTERADA

Para sobrevivir, y finalmente crecer y proliferar para formar una masa tumoral, las células tumorales deben desarrollar la capacidad de obtener todos los nutrientes necesarios de ambientes típicamente hipóxicos y pobres en nutrientes. Teniendo en cuenta estos hechos inmutables, no es sorprendente que múltiples estudios transcriptómicos (RNA-se) hayan demostrado que los genes que codifican las proteínas implicadas en la captura, captación y metabolismo de nutrientes están a menudo mutados y/o sobreexpresados en diferentes tipos de tumores. Estas observaciones han intensificado las investigaciones sobre el metabolismo en general, y en las células cancerígenas en particular.

La glucosa y el aminoácido glutamina son dos de los metabolitos más abundantes en el plasma. Juntos, representan gran parte del metabolismo del carbono y el nitrógeno en las células humanas. En 1924 el bioquímico Otto Warburg y sus colegas descubrieron que las células cancerígenas consumen grandes cantidades de glucosa y la metabolizan a través de la glucólisis en ácido láctico, incluso en presencia de oxígeno. Esta observación se denominó el

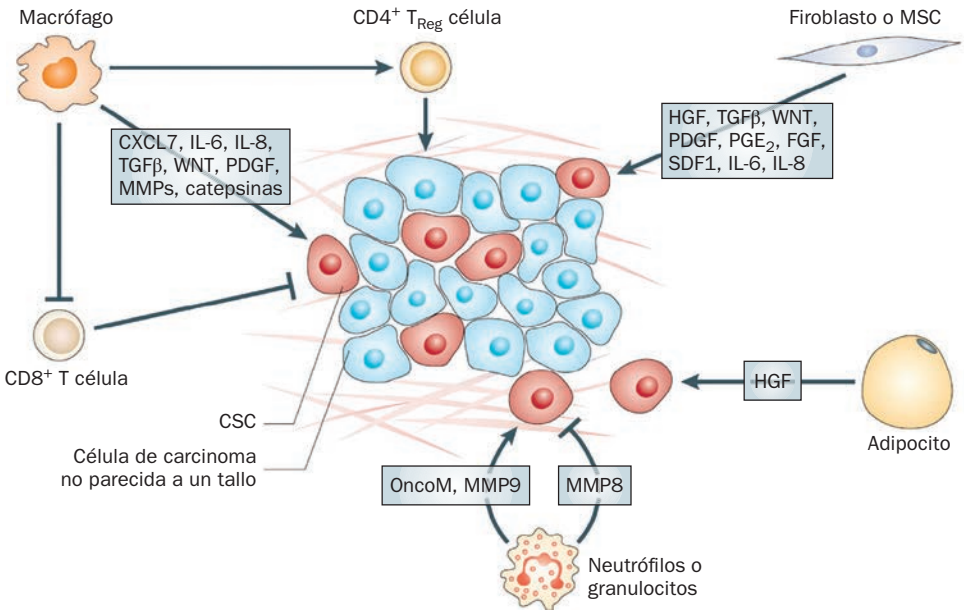


FIGURA 56-10 **El microambiente tumoral contribuye críticamente al crecimiento de las células tumorales.** Cada tipo de célula representada afecta al tumor mediante la secreción de factores que estimulan la formación de células madre cancerígenas (CSC, *cancer stem cells*) y ayuda a mantener la residencia de los CSC ya formados en el estado de células madre. Aquí se resumen algunos de los principales tipos de células y sus factores secretados, enumerados por tipo de célula, que se sabe que tienen un impacto en las CSC y las células cancerígenas. [CXCL7 (*CXC-chemoquine ligand 7*): CXC-quimioquina ligando 7; FGF: factor de crecimiento de fibroblastos; HGF (*hepatocyte growth factor*): factor de crecimiento de hepatocitos; IL-6 (*interleukin 6*): interleucina 6; MMP (*matrix metalloproteinase*): metaloproteinasa de matriz; MSC (*mesenchymal stem cell*): célula madre mesenquimal; OncoM (*oncostatin M*): oncostatina M; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas: PGE_2 (*prostaglandin* E_2): prostaglandina E_2; SDF1 (*stromal cell-derived factor 1*): factor 1 derivado de células estromales, TGF-β: factor de crecimiento transformante β). (Adaptado de Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells—what challenges do they pose? *Nat Rev Drug Discov* 2014 jul;13(7):497-512).

efecto Warburg. Sobre la base de estos datos, Warburg propuso dos hipótesis: primero, que la relación aumentada de la glucólisis a la respiración aeróbica probablemente se debía a defectos en la cadena respiratoria mitocondrial; y en segundo lugar, que los niveles mejorados de la glucólisis permitieron que las células cancerígenas proliferaran preferentemente en la tensión reducida de oxígeno que a menudo se observa en los tumores. Además, Warburg argumentó que el cambio del metabolismo de la glucosa aeróbica a anaeróbica era un factor determinante de la tumorogénesis.

Ahora se piensa que la reprogramación de la respiración mitocondrial típicamente observada en las células tumorales es un efecto directo de al menos dos tipos de influencias, más que de defectos manifiestos en las mitocondrias. El primero de ellos es la señalización autosostenida por los factores de crecimiento que caracteriza a las células cancerígenas, lo que provoca un aumento de la proliferación celular (figuras 56-1 y 56-2). El segundo de estos son los cambios genéticos en genes específicos que codifican enzimas metabólicas, transportadores de metabolitos y otros genes relacionados. Estas alteraciones genéticas incluyen la expresión preferencial de ciertas variantes de ensamblaje de mRNA, la amplificación de genes particulares que codifican enzimas, así como las eficiencias y especificidades catalíticas alteradas y productos metabólicos. Conjuntamente, los cambios resultantes provocan un recableo metabólico importante, así como cambios epigenéticos en la actividad de la maquinaria de transcripción (es decir, metilación del DNA y la proteína, acetilación y otras modificaciones de postraducción) que conducen a un anabolismo celular más eficiente y la alteración del tumor microambiente, que en conjunto permite la proliferación de tumores.

Un ejemplo de recableado metabólico específico de células tumorales puede ilustrarse mediante el ejemplo de la piruvato quinasa. Hay dos isozimas, PKM1 y PKM2, que están codificadas por el gen del músculo glucolítico de piruvato quinasa, *PKM*. Las PKM1 y PKM2 se generan mediante un ensamblaje alternativo (véase capítulo 38). A diferencia de PKM1, que se expresa de manera constitutiva en las células normales, PKM2 se expresa más, a menudo, en las células cancerígenas. Sin embargo, es más importante el hecho de que PKM2 existe en una forma dimérica que muestra una actividad catalítica muy baja, o una forma tetramética, con una alta actividad catalítica. La PKM2 en las células cancerígenas se encuentra con mayor frecuencia en la forma dimérica de baja actividad, que da como resultado la acumulación de intermediarios glucolíticos. Estos productos intermedios permiten a las células cancerígenas sintetizar macromoléculas que favorecen la proliferación rápida (como se propone en la hipótesis original de Warburg). Dicha **reprogramación enzimática metabólica** conduce finalmente a un menor desplazamiento de la energía química derivada de la glucosa en la producción de ATP (**figura 56-11**), con una derivación concomitante de dicha energía para construir la biomasa celular de proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, etc. Estas macromoléculas son esenciales para la proliferación celular (en este caso, proliferación de células cancerígenas). Colectivamente, estas observaciones ayudan a explicar por qué un alto nivel de glucólisis confiere una ventaja selectiva sobre las células tumorales. Sobre la base de tales observaciones, un enfoque actual prometedor es analizar muestras de sangre y orina mediante espectrometría de masas para buscar alteraciones en los perfiles de metabolitos que pueden ayudar a detectar el cáncer en una etapa temprana.

Los tumores sólidos típicamente tienen áreas localizadas de **suministro sanguíneo deficiente**, y como se indicó antes, utilizan con preferencia el metabolismo glucolítico y, por tanto, secretan ácido láctico en el microambiente tumoral, lo que conduce a la acidosis local. Se ha presupuesto que la acidosis TME local permite que las células tumorales invadan con mayor facilidad. La **baja tensión de oxígeno** en áreas de tumores con suministro sanguíneo deficiente estimula la expresión del factor 1 inducible por hipoxia (**HIF-1**, *hypoxia-inducible factor-1*). Este factor de transcripción, que se activa por la tensión baja en oxígeno, regula positivamente (entre otras acciones) la transcripción de al menos ocho genes que controlan la síntesis de las enzimas implicadas en la glucólisis.

El **pH** y la **tensión de oxígeno** en los tumores son factores importantes que afectan las respuestas a los medicamentos contra el cáncer y otros tratamientos. Por ejemplo, la eficacia anticancerosa del tratamiento de radiación de cánceres es significativamente menor en condiciones hipóxicas. Los productos químicos se han desarrollado para inhibir la glucólisis en las células tumorales, y quizás matarlas selectivamente (**cuadro 56-11**). Estos incluyen **3-bromopiruvato** (un inhibidor de la hexoquinasa-2) y **2-desoxi-D-glucosa** (un inhibidor de la hexoquinasa-1). Otro compuesto, el **dicloroacetato** (DCA, *dichloroacetate*), inhibe la actividad de la piruvato deshidrogenasa quinasa y, por tanto, estimula la actividad de la piruvato deshidrogenasa (véase capítulo 17), desviando el sustrato de la glucólisis hacia el ciclo del ácido cítrico. Sin embargo, hasta ahora, no se ha descubierto que alguno de estos sea clínicamente útil.

CÉLULAS MADRE EN EL CÁNCER

Las células madre se analizaron brevemente en los capítulos 39 y 53. En la actualidad se está trabajando bastante para investigar el papel de las células madre en el cáncer. Se cree que las células madre cancerígenas albergan mutaciones que, solas o en combinación con otras mutaciones, hacen que estas células sean cancerígenas. Las células madre se pueden detectar mediante el uso de marcadores de superficie específicos u otras técnicas. Parece que los tejidos circundantes (p. ej., los componentes de la matriz extracelular) pueden influir significativamente en el comportamiento de estas células (véase figura 56-10). Un concepto importante que impulsa parte de la investigación en esta área es la creencia de que una de las razones por las que la quimioterapia contra el cáncer no es a menudo exitosa es que existe un **grupo de células madre cancerígenas** que no es susceptible a la quimioterapia convencional. Las razones para esto incluyen el hecho de que muchas células madre están relativamente inactivas, tienen sistemas activos de reparación del DNA (véase figura 35-23), expresan transportadores de fármacos que pueden expulsar los medicamentos contra el cáncer y, a menudo, son resistentes a la apoptosis.

Se están acumulando pruebas que apuntan a que las células madre cancerígenas sí desempeñan un papel clave en muchos tipos de neoplasias. De ser así, el desarrollo de terapias con alta especificidad para matar estas células madre tendrá un valor considerable.

LOS TUMORES A MENUDO ESTIMULAN LA ANGIOGÉNESIS

Las células tumorales necesitan un suministro adecuado de sangre para proporcionar nutrientes para su supervivencia. Se ha descubierto que tanto las células tumorales como las células de los tejidos que rodean a los tumores **secretan factores angiogénicos** que estimulan el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. Ha habido mucho interés en la angiogénesis tumoral, porque la inhibición de este proceso representa un medio potencial para matar células tumorales.

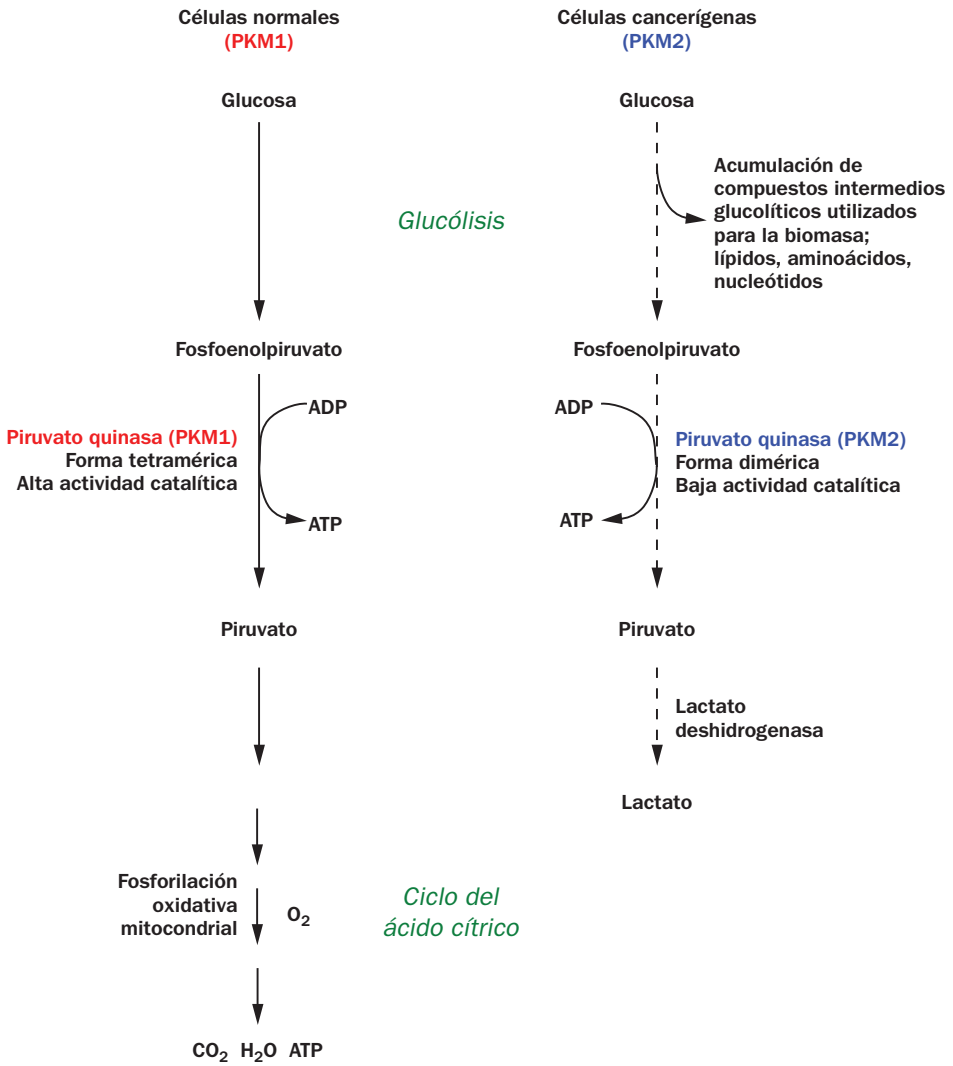


FIGURA 56-11 Isozimas de piruvato quinasa y glucólisis en células normales y en células cancerígenas. En las células normales, la principal fuente de ATP es la fosforilación oxidativa. Parte del ATP se obtiene de la glucólisis. La principal isozima de piruvato quinasa (PK, *pyruvate kinase*) en células normales es PKM1. En las células cancerígenas, la glucólisis aeróbica es prominente, el ácido láctico se produce por acción de la lactato deshidrogenasa (LDH, *lactate dehydrogenase*) y la producción de ATP por la fosforilación oxidativa está disminuida (no se muestra en la figura). En las células cancerígenas, la PKM2 es la principal isozima PK. Por razones complejas aún no completamente comprendidas, este cambio en el perfil de las isoenzimas en las células cancerígenas se asocia con una disminución de la producción neta de ATP a partir de la glucólisis, pero con un mayor uso de metabolitos para acumular biomasa.

El crecimiento de los vasos sanguíneos que suministran a las células tumorales puede ser estimulado por la **hipoxia** y otros factores. Como se mencionó anteriormente, la hipoxia induce **HIF-1**, que a su vez aumenta los niveles del **factor de crecimiento endotelial vascular** (**VEGF**, *vascular endothelial growth factor*), una familia de proteínas que sirven como principales estimuladores de la angiogénesis. Las proteínas VEGF interactúan con receptores de tirosina quinasa específicos en células endoteliales y linfáticas. Estas interacciones activan las rutas de señalización que causan la regulación positiva de la ruta NF-κB (véase capítulo 42), lo que da como resultado la proliferación de células endoteliales y la formación de nuevos vasos sanguíneos. De estos, los que suministran a los tumores no son normales; su estructura está a menudo desorganizada, con niveles de integridad inferiores a los normales. Por consiguiente, tienen a menudo más agujeros que los vasos sanguíneos normales. Moléculas distintas de VEGF, como la **angiopoyetina**, **factor de crecimiento de fibroblastos β**(**β-FGF**), **TGF-β** y **factor de crecimiento placentario**, también estimulan la angiogénesis. Ciertamente otras moléculas también inhiben el crecimiento de los vasos sanguíneos (p. ej., **angiogenina** y **endostatina**).

Se han desarrollado **anticuerpos monoclonales** (**mAb**, *monoclonal antibodies*) para una forma de VEGF (p. ej., bevacizumab o avastatin) y se han usado en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer (p. ej., colon y mama). Estos mAb se unen al VEGF y lo bloquean para que no actúe, presumiblemente bloqueando la interacción del VEGF con el receptor de VEGF. Se descubrió que estos mAb terapéuticos aumentan la supervivencia del paciente, pero la mayoría de los pacientes recayeron eventualmente. Como con muchas terapias antineoplásicas, ahora se cree que estos mAb se usan mejor en combinación con otras terapias contra el cáncer. Se están desarrollando también anticuerpos monoclonales para otros factores de crecimiento que estimulan la angiogénesis y se encuentran en

CUADRO 56-11 Algunos compuestos que inhiben la glucólisis y se ha descubierto que muestran actividad anticancerígena variable

Compound	Enzima inhibida
3-bromopiruvato	Hexoquinasa II
2-deoxi-D-glucosa	Hexoquinasa I
Dicloroacetato	Piruvato deshidrogenasa quinasa (PDH, *pyruvate dehydrogenase kinase*)
Iodoacetato	Glicerladehído-fosfato deshidrogenasa

Nota: La razón del desarrollo de estos agentes es que la glucólisis suele ser mucho más activa en las células tumorales, por lo que su inhibición puede dañarlas más que a las células normales. La inhibición de PDH quinasa da como resultado la estimulación de PDH, desviando el piruvato de la glucólisis.

ensayos clínicos, como lo están los inhibidores de la angiogénesis de moléculas pequeñas. Los inhibidores de la angiogénesis son útiles en otras afecciones, tales como la **degeneración macular** "húmeda" o relacionada con la edad y la **retinopatía diabética**, en las que la proliferación de los vasos sanguíneos es una característica.

LA METÁSTASIS ES EL ASPECTO MÁS GRAVE DEL CÁNCER

Se ha estimado que aproximadamente 85% de la mortalidad asociada con el cáncer es resultado de la metástasis. La propagación del cáncer suele ser a través de vasos linfáticos o sanguíneos. La metástasis es un proceso complejo, cuyos mecanismos moleculares están comenzando a comprenderse actualmente.

La **figura 56-12** presenta un esquema simplificado de metástasis. El evento más temprano es la **separación** de las células tumorales del tumor primario. Las células pueden obtener acceso a la circulación (o a los vasos linfáticos), un proceso denominado **intravasación**. Una vez en la circulación, tienden a **detenerse** en el lecho capilar pequeño más cercano. En ese sitio, se **extravasan** y **migran** a través de la **matriz extracelular** (**ECM**, *extracellular matrix*) vecina, antes de encontrar un sitio para establecerse. A partir de entonces, si sobreviven a los mecanismos de defensa del huésped, crecen a niveles variables. Para asegurar el crecimiento, las células metastásicas necesitan un suministro adecuado de sangre, como se discutió anteriormente.

Muchos estudios han demostrado que las células cancerígenas tienen un complemento anómalo de proteínas en su superficie. Estos cambios pueden permitir la disminución de la adhesión celular y que las células cancerígenas individuales se separen del tumor original. Las moléculas en las superficies celulares implicadas en la adhesión celular se denominan **moléculas de adhesión celular** o **CAM** (**cuadro 56-12**). Las disminuciones en las cantidades de CAM **E-cadherina**, una molécula de gran importancia en la adhesión de muchas células normales, pueden ayudar a explicar la disminución de la adhesividad de muchas células cancerígenas. Muchos estudios han mostrado cambios en las cadenas de oligosacáridos de las glucoproteínas de la superficie celular (véase figura 40-7), que ocurren debido a las actividades alteradas de varias glucosiltransferasas (véase capítulo 46). Uno de estos cambios importantes es un aumento en la actividad de GlcNAc transferasa V. Esta enzima cataliza la transferencia de GlcNAc a una cadena de oligosacáridos en crecimiento, formando un enlace β1-6 y permitiendo un mayor crecimiento de la cadena. Se ha propuesto que tales cadenas alargadas participan en un entramado alterado de glucano en la superficie celular. Esto puede causar una reorganización estructural de los receptores y otras moléculas, lo que puede predisponer a la propagación de las células cancerígenas.

Otra propiedad importante de muchas células cancerígenas es que pueden liberar varias **proteinasas** en la ECM. De las cuatro clases principales de proteinasas (serina, cisteína, aspartato y metaloproteinasas), en el cáncer, el interés particular se ha centrado en las **metaloproteinasas de la matriz** (**MMP**). Las MMP constituyen una gran familia de enzimas dependientes de metales (generalmente zinc). Varios estudios han demostrado una mayor actividad de las MMP, como MMP-2 y MMP-9 (también conocidas como gelatinasas), en tumores. Estas enzimas son capaces de degradar proteínas, como el colágeno, en la membrana basal y en la EMC, lo que facilita la propagación de las células tumorales. Se han desarrollado inhibidores de estas enzimas, pero hasta ahora no han tenido mucho éxito clínico.

Otro factor que permite un mayor movimiento de las células cancerígenas es la **transición epitelial a mesenquimal** o **EMT** (*epithelial-to-mesenchymal transition*). Este es un cambio en la morfología y la función celulares del tipo epitelial al mesenquimal, tal vez inducido por factores de crecimiento. Los tipos mesenquimales tienen más filamentos de actina, lo que permite un mayor movimiento, una propiedad esencial de las células que producen metástasis.

La ECM también juega un papel importante en la metástasis. Hay evidencia de comunicación por mecanismos de señalización entre las células cancerígenas y las del ECM. Los tipos de células en la ECM también pueden afectar la metástasis. Como se mencionó antes, las proteinasas que degradan las proteínas en la ECM pueden facilitar la diseminación de las células cancerígenas. Además, la ECM contiene diversos factores de crecimiento que pueden influir en el comportamiento del tumor.

En sus viajes, las células tumorales están expuestas a varias células del sistema inmune (como células T, células NK y macrófagos, véase capítulo 54) y deben poder sobrevivir a la exposición a ellas. Algunas de estas células de vigilancia inmune secretan diversas **quimioquinas**, pequeñas proteínas que pueden atraer diversas células, como los leucocitos, causando a veces una respuesta inflamatoria a las células tumorales.

Se ha estimado que considerablemente menos de 1 de cada 10 000 células cancerígenas pueden tener la capacidad genética para colonizar con éxito. Ciertas células tumorales muestran predilección por producir metástasis a órganos específicos (p. ej., células de la próstata al hueso). Es probable que moléculas de la superficie celular específica estén involucradas en este tropismo.

Varios estudios han demostrado que ciertos genes potencian la metástasis, mientras que otros actúan como genes supresores de la metástasis. La determinación exacta de cómo funcionan estos genes es el tema de una intensa investigación. El **cuadro 56-13** resume algunos puntos importantes con respecto a la metástasis.

HAY MUCHOS ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DEL CÁNCER

La inmunología tumoral es un campo de estudio amplio; debido a la amplitud extensiva de este campo, sólo puede tratarse aquí de manera breve. Es probable que la disminución normal de la respuesta inmune que acompaña al **envejecimiento** desempeñe un papel en

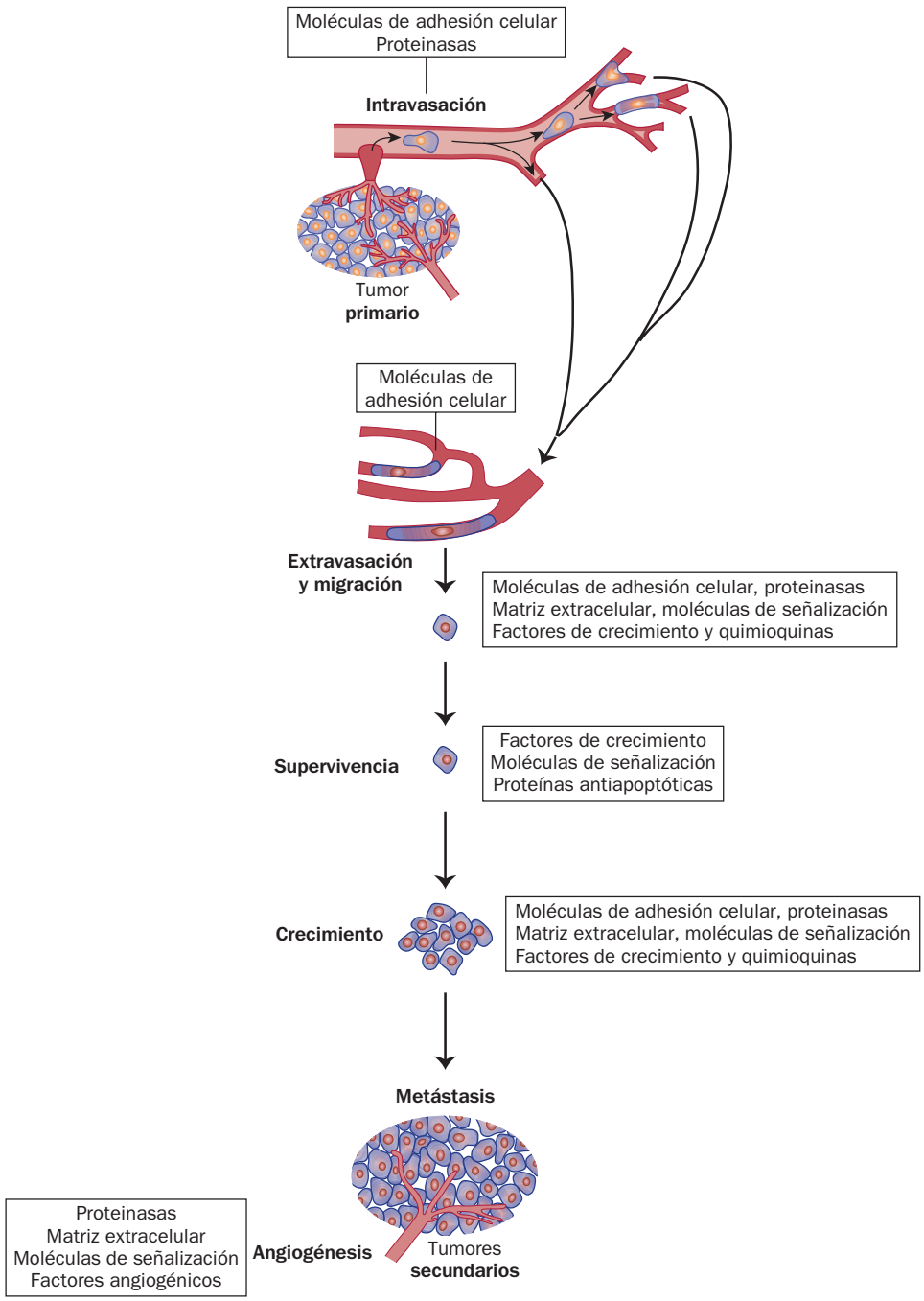


FIGURA 56-12 **Esquema simplificado de la metástasis.** Representación esquemática de la secuencia de pasos en la metástasis, en la que se indican algunos de los factores que se cree están involucrados en esta. (De Tannock IF, *et al*. *The Basic Science of Oncology*. 4th ed. McGraw-Hill; 2005).

la mayor incidencia de cáncer en las personas mayores. Una esperanza de larga data ha sido que los enfoques inmunológicos para tratar el cáncer (**inmunoterapia**), debido a su **especificidad**, podrían ser capaces de matar selectivamente las células cancerígenas. Hay muchos ensayos clínicos en curso que investigan esta posibilidad. Estos estudios implican el uso de anticuerpos, vacunas y varios tipos de células T que se han manipulado de una manera u otra para aumentar su capacidad de destruir células neoplásicas. Uno de los métodos que ha probado ser efectivo es el uso de anticuerpos contra ciertas proteínas de superficie de linfocitos T. Por ejemplo, se ha demostrado que los anticuerpos desarrollados contra el antígeno 4 del linfocito T citotóxicos (anti-CTLA-4) o la muerte programada 1 (anti-PD1) "quitan los frenos" de estas células, lo que les permite atacar las células cancerígenas. Otras estrategias que usan células T modificadas también han demostrado ser efectivas. La principal ventaja de la inmunoterapia es que tiene un amplio espectro de acción y, por tanto, puede usarse contra una gran variedad de cánceres. Además, es menos probable que ocurra resistencia a esta forma de tratamiento. Se espera que la inmunoterapia sea la cuarta arma principal contra el cáncer, después de la

CUADRO 56-12 Algunas moléculas de adhesión celular (CAM) importantes

- Cadherinas
- Moléculas de adhesión intercelular (ICAM, *intercellular adhesion molecules*)
- Integrinas
- Selectinas

Nota: Las CAM pueden ser homofílicas o heterofílicas. Las primeras interactúan con moléculas idénticas en las células vecinas, mientras que las segundas interactúan con diferentes moléculas. Las cadherinas son homofílicas, las selectinas y las integrinas son heterofílicas, y las Ig CAM pueden ser cualquiera de las dos. Las integrinas se tratan brevemente en el capítulo 54, y las selectinas en el capítulo 46.

cirugía, la radioterapia y la quimioterapia, convirtiéndola en el "gran avance del año 2013" de la revista *Science*.

La **inflamación crónica** implica aspectos de la función inmune. Existe evidencia de que puede **predisponer al cáncer** (p. ej., la incidencia de cáncer colorrectal es mucho más alta de lo normal en individuos que han tenido colitis ulcerosa por mucho tiempo). Algunas células inflamatorias producen cantidades relativamente grandes de **especies reactivas de oxígeno** (ROS), que pueden causar daño al DNA y quizá contribuir a la oncogénesis. También se ha informado que **dosis bajas de aspirina** pueden reducir el riesgo de desarrollar cáncer colorrectal, tal vez a través de su acción antiinflamatoria.

Cáncer: su relación con la inflamación y la obesidad

La asociación entre la inflamación y el cáncer se encuentra bien establecida en la actualidad. Se sabe que la inflamación es un componente crítico de la tumorogénesis. Dicho esto, los mecanismos exactos que relacionan la inflamación y el cáncer son poco conocidos. Los ejemplos de posibles moléculas que participan en la inducción de un proceso inflamatorio incluyen el factor nuclear kappa B (NF-κB) y el transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (STAT3, *signal transducer and activator of transcription 3*). El NF-kB es un factor de transcripción que induce la expresión de proteínas que están involucradas en procesos proinflamatorios, proliferativos y reparativos. Se ha demostrado que la activación de NF-kB ocurre en los tumores en respuesta a estímulos inflamatorios o mutaciones oncogénicas (véase capítulo 42). La señalización a través de STAT3 está activada por la interleucina 6 (IL-6), una citocina proinflamatoria que activa la señalización de Janus quinasa (JAK)-STAT y sus efectos posteriores (véase capítulo 42). Se cree que estos eventos son responsables de impulsar muchas características distintivas del cáncer. Además, el "**inflamasoma**", un complejo multiproteico que actúa como un sensor de daño celular, es otro candidato potencial que media la inflamación. La activación de inflamasomas conduce a la secreción de **citocinas proinflamatorias**, tales como **IL-1β** e **IL-18**, que se han implicado en la tumorogénesis. Existe una gran cantidad de pruebas para implicar a otros mediadores inflamatorios en el desarrollo de tumores.

La obesidad se asocia con inflamación de bajo grado. El tejido adiposo visceral se considera una fuente importante de citocinas proinflamatorias. Ahora se sabe que el microambiente que rodea las células tumorales influye en la tumorogénesis (véase más arriba). Se considera que las células inflamatorias en el microambiente del tumor desempeñan un papel crucial en el proceso. Se ha demostrado que la obesidad media y exacerba los cambios disfuncionales en el microambiente; esto se ha demostrado que ocurre tanto en tejido normal como en tumores. Dichos cambios incluyen alteraciones en los factores que pueden ser de naturaleza endocrina, metabólica o inflamatoria. Por el contrario, se ha demostrado que la restricción calórica inhibe la tumorogénesis en modelos experimentales. Muchas rutas celulares, como las que implican la señalización del factor de crecimiento, la inflamación, la homeostasis celular y el microambiente tumoral se ven afectadas por dicha restricción calórica. Estas observaciones sugieren que tales objetivos se pueden considerar para la prevención del cáncer en humanos.

CUADRO 56-13 Características importantes de la metástasis

- Una transición celular de epitelial a mesenquimal se encuentra a menudo en cánceres, lo que permite la separación y la diseminación de células potencialmente metastásicas.
- La metástasis es relativamente ineficiente (sólo alrededor de 1:10 000 células tumorales pueden tener el potencial genético para colonizar).
- Las células metastásicas deben evitar varias células del sistema inmune para sobrevivir.
- Los cambios en las moléculas de la superficie celular (p. ej., CAM y otros) están involucrados en el proceso.
- El aumento de la actividad de proteinasas (p. ej., de MMP-2 y MMP-9) facilita la invasión.
- Se ha demostrado la existencia de genes potenciadores de metástasis y supresores.
- Algunas células cancerígenas se metastatizan preferentemente a órganos específicos.
- Las marcas de genes de metástasis se pueden detectar mediante un análisis de transcriptoma/exoma; dicha información del transcriptoma puede ser de valor pronóstico, permitiendo potencialmente un tratamiento terapéutico personalizado.

Abreviaturas: CAM: molécula de adhesión celular; MMP: matriz metaloproteinasa.

LOS BIOMARCADORES TUMORALES PUEDEN MEDIRSE EN MUESTRAS DE SANGRE Y OTROS FLUIDOS CORPORALES

Las pruebas bioquímicas a menudo son útiles en el tratamiento de pacientes con cáncer (p. ej., algunos pacientes con cánceres avanzados pueden tener niveles elevados de calcio en plasma, que pueden causar problemas graves, si no se atienden). Muchos cánceres están asociados con la producción anómala de enzimas, proteínas y hormonas que pueden medirse en plasma o suero. Estas moléculas se conocen como **biomarcadores tumorales**. Algunos de ellos se enumeran en el **cuadro 56-14**.

Sin embargo, elevaciones significativas de algunos de los biomarcadores enumerados en el cuadro 56-14 también ocurren en una variedad de **enfermedades no cancerígenas**. Por ejemplo, las elevaciones del nivel del **antígeno prostático específico** (**PSA**, *prostate-specific antigen*), una glucoproteína sintetizada por las células prostáticas, ocurren no sólo en pacientes con cáncer de próstata, sino también en pacientes con prostatitis e **hiperplasia prostática benigna** (**BPH**, *benign prostatic hyperplasia*). De manera similar, las elevaciones del **antígeno carcinoembrionario** (**CEA**, *carcinoembryonic antigen*) se encuentran no sólo en pacientes con varios tipos de cáncer, sino también en fumadores empedernidos y personas con colitis ulcerosa y cirrosis. El hecho de que las elevaciones de los biomarca-

CUADRO 56-14 Algunos biomarcadores tumorales útiles medibles en sangre

Biomarcador tumoral	Cáncer asociado
Alfafetoproteína (AFP, α-*Fetoprotein*)	Carcinoma hepatocelular, tumor de células germinales
Calcitonina (CT, *calcitonin*)	Tiroides (carcinoma medular)
Antígeno carcinoembrionario (CEA)	Colon, pulmón, mama, páncreas, ovario
Gonadotropina coriónica humana (hCG, *human chorionic gonadotropin*)	Enfermedad trofoblástica, tumor de células germinales
Inmunoglobulina monoclonal	Mieloma
Antígeno prostático específico (PSA)	Próstata
CA-125	Ovario
CA 19-9	Páncreas

Nota: La mayoría de estos biomarcadores tumorales también están elevados en la sangre de pacientes con enfermedades no cancerígenas. Por ejemplo, el CEA está elevado en una variedad de trastornos gastrointestinales no cancerosos, y el PSA está elevado en la prostatitis y la hiperplasia prostática benigna. Esta es la razón por la cual la interpretación de los resultados elevados de los marcadores tumorales debe hacerse con precaución y sus principales usos son seguir la efectividad de los tratamientos y detectar recurrencias. Hay otros biomarcadores tumorales que se usan ampliamente.

dores tumorales no suelen ser específicas para el cáncer ha significado que las mediciones de la mayoría de ellas no se utilicen principalmente para el diagnóstico de cáncer. Sus principales usos han sido seguir la efectividad de los tratamientos y detectar la recurrencia temprana. Al igual que con otras pruebas de laboratorio (véase capítulo 48), se debe considerar todo el cuadro clínico al interpretar los resultados de las mediciones de los biomarcadores tumorales.

Se espera que los análisis **-ómicos** continuos de fluidos corporales y células cancerígenas accesibles (en muestras de sangre, suero y biopsia) proporcionen nuevos **biomarcadores tumorales** de mayor sensibilidad y especificidad, y aquellos capaces de alertar la presencia de cánceres a una edad temprana de su desarrollo. Los análisis de transcriptoma y de secuenciación completa del genoma (véase capítulo 39 y más adelante) de las células cancerígenas han revelado una gran cantidad de biomarcadores de oncogénesis potencialmente muy útiles. Estos métodos también son valiosos para subclasificar con mayor precisión los tumores (la llamada "medicina personalizada", véase capítulo 39) para proporcionar diagnósticos más precisos y orientar los modos de terapia más eficaces y específicos. Dichos métodos de diagnóstico molecular se están convirtiendo en el estándar de atención para un subconjunto selecto de cánceres.

LOS ANÁLISIS GENÉTICOS DETALLADOS DE LAS CÉLULAS TUMORALES PROPORCIONAN NUEVOS CONOCIMIENTOS SOBRE EL CÁNCER

Desde la finalización del Proyecto del Genoma Humano, la tecnología de la secuenciación de DNA a gran escala y los análisis bioinformáticos y la interpretación de datos de secuencia ha avanzado considerablemente. La secuenciación de DNA a gran escala se ha vuelto más rápida y más barata con la disponibilidad generalizada de las tecnologías de **secuenciación de próxima generación** (**NGS**, *next generation sequencing*) (véase capítulo 39). Estos avances han permitido el análisis de secuencias de DNA de una gran cantidad de tipos diferentes de tumores. Al secuenciar los genomas y exomas completos de los tumores, se ha determinado un **catálogo completo** de tipos específicos y números de **mutaciones genéticas** encontradas en diferentes cánceres. Tal información está revolucionando las **pruebas de diagnóstico** y el desarrollo de terapias personalizadas. Además, tales estudios ayudarán a identificar mutaciones específicas en genes que causan o aceleran el cáncer. El primer tipo de mutaciones se conocen como mutaciones del **conductor**, mientras que los últimos tipos se denominan mutaciones de **pasajeros**. Las tecnologías moduladoras del genoma, como el silenciamiento génico y la edición del genoma (enfocadas en métodos basados en CRISPR), se están convirtiendo en herramientas importantes en dichos estudios.

Los tumores a menudo muestran una heterogeneidad extrema, de modo que consisten en subpoblaciones de células que son genética y fenotípicamente distintas entre sí (véase figura 56-10). En la actualidad es posible aislar y secuenciar células individuales obtenidas de tumores (**secuenciación de células individuales**), para comprender el paisaje genético de un tumor en particular. Tal comprensión es importante para desarrollar estrategias de tratamiento multimodal que se dirijan eficientemente a todas las subpoblaciones en un tumor dado.

En general, se espera que la información obtenida de estas nuevas tecnologías impacte de modo radical en las siguientes etapas de la genómica del cáncer y ayude en el desarrollo de métodos que permitan el diagnóstico precoz del cáncer, la identificación de cambios genéticos críticos que conducen la progresión del cáncer y, en última instancia, la terapia personalizada para el cáncer en pacientes individuales. Tal enfoque individualizado para el diagnóstico y tratamiento del cáncer se denomina **oncología de precisión**.

EL CONOCIMIENTO DE LOS MECANISMOS IMPLICADOS EN LA CARCINOGÉNESIS HA LLEVADO AL DESARROLLO DE NUEVAS TERAPIAS

Una de las grandes esperanzas en la investigación sobre el cáncer es que los conocimientos sobre los mecanismos bioquímicos y genéticos fundamentales implicados en la carcinogénesis conducirán a nuevas y mejores terapias. Esto ya ha ocurrido en cierta medida y se espera que los desarrollos en curso aceleren este proceso.

Los fármacos quimioterapéuticos clásicos incluyen agentes alquilantes, complejos de platino, antimetabolitos, venenos del eje mitótico, entre otras clases de compuestos químicos. Sobre estos agentes no se discutirá aquí. Dentro de las clases de fármacos desarrollados más recientemente están los inhibidores de la señal de transducción (incluidos los inhibidores de tirosina quinasa), los anticuerpos monoclonales dirigidos a diversas moléculas blanco, los inhibidores de los receptores hormonales, los fármacos que afectan la diferenciación, los agentes antiangiogénesis y los modificadores de la respuesta biológica. Los ejemplos de cada uno de estos se enumeran en el **cuadro 56-15**.

El descubrimiento de defectos generalizados en los mecanismos de señalización en las células cancerígenas, y en particular la detección de mutaciones en las **tirosina quinasas**, ha conducido al desarrollo de inhibidores de estas enzimas. El éxito más notable ha sido probablemente la introducción de imatinib (comercializado como Gleevec) para el tratamiento de la **leucemia mielocítica crónica** (**CML**, *chronic myelocytic leukemia*). El imatinib es un fármaco admi-

CUADRO 56-15 Algunos agentes anticancerígenos que se basan en los avances recientes en el conocimiento de la biología del cáncer

Clase	Ejemplo	Usado para tratar
Inhibidores de la transducción de señales	Imatinib, un inhibidor de la tirosina quinasa	Leucemia mielocítica crónica
Anticuerpos monoclonales	Trastuzumab, un Mab para el receptor HER2/Neu	Cáncer de mama en etapa avanzada
Agentes antiangiogénesis	Bevacizumab, un Mab para VEGF A	Cánceres de colon y mama
Agentes antihormonales	Tamoxifeno, antagonista del receptor de estrógeno	Cáncer de mama
Afectan la diferenciación	Ácido retinoico all-trans (ATRA, *all-trans retinoic acid*), actúa en el receptor de ácido retinoico en las células de leucemia promielocítica, lo que hace que se diferencien	Leucemia promielocítica
Afectan los cambios epigenéticos	La 5-azadesoxicitidina inhibe las metiltransferasas de DNA; SAHA inhibe las desacetilasas de histonas	Ciertas leucemias, linfoma cutáneo de células T

Abreviaturas: Leucemia mielocítica crónica; Mab (*monoclonal antibody*): anticuerpo monoclonal; SAHA (*suberoylanilide hydroxamic acid*): ácido suberoilanilida hidroxámico (Vorinostat); VEGF A: factor de crecimiento endotelial vascular A.
Nota: En algunos casos, los agentes anteriores pueden haber sido reemplazados por otros agentes más efectivos. Algunos de los agentes enumerados anteriormente también se usan para tratar enfermedades distintas de las enumeradas.

nistrado por vía oral que inhibe la tirosina quinasa formada debido a la translocación cromosómica *ABL-BCR* que está implicada en la génesis de CML. El imatinib, un análogo de ATP, se une competitivamente al bolsillo de unión a ATP de la quinasa. Este medicamento ha producido remisiones completas en muchos pacientes. Otros inhibidores de la tirosina quinasa incluyen erlotinib y gefitinib, los cuales inhiben el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Este se sobreexpresa en ciertos cánceres de pulmones (p. ej., cánceres de células no pequeñas) y de mama, lo que produce una señalización aberrante (constitutiva). Es importante apreciar que el diseño de tales fármacos requiere un conocimiento estructural detallado como el proporcionado por la cristalografía de rayos X, estudios de NRM y la construcción de modelos de las moléculas en las que se actúa. Otra clase de fármacos útiles son los **anticuerpos monoclonales** para diversas moléculas expuestas en las superficies de las células neoplásicas (véase discusión más arriba con respecto al mAb antiVEGF). Algunos de estos mAb que son clínica y terapéuticamente útiles se enumeran en el cuadro 56-15.

Otros enfoques que se emplean o están en desarrollo para el tratamiento del cáncer, pero que no se incluyen en el cuadro 56-15, incluyen varios tipos de **terapia génica** (incluyendo los siRNA, capítulo 34), **inmunoterapia** (véase más adelante), **virus oncolíticos** (virus que invaden preferentemente células tumorales y las matan), **inhibidores de los receptores de hormonas esteroides**, **inhibidores de la aromatasa** (véase capítulo 41) (para algunos cánceres de mama y ovario), **inhibidores de la telomerasa**, aplicaciones de la **nanotecnología** (p. ej., nanocápsulas y otras nanopartículas), **fototerapia** (véase capítulo 31) y medicamentos que **actuarán selectivamente en las células madre cancerígenas**.

Es importante comprender que los medicamentos contra el cáncer tienen efectos secundarios, al igual que todos los demás productos terapéuticos. A veces, estos son severos. La resistencia a muchos medicamentos puede desarrollarse después de varios lapsos de tiempo a través de cambios genéticos conducidos por la terapia/seleccionados en las células tumorales.

El estudio de los mecanismos por los cuales las células cancerígenas desarrollan resistencia a los fármacos es un área importante de investigación. Las células cancerígenas usan una serie de estrategias para desarrollar resistencia a los medicamentos (véase resumen, **cuadro 56-16**). La tendencia general del desarrollo de fármacos para

CUADRO 56-16 Mecanismos por los cuales las células cancerígenas pueden desarrollar resistencia a los fármacos

Mecanismo de resistencia a los fármacos	Ejemplo
Aumento de la expulsión del fármaco desde la célula	La sobreexpresión de las proteínas de transporte, como las proteínas de resistencia a múltiples fármacos (MDR, *multidrug resistance proteins*) (p. ej., P-glucoproteína o MDR1), provoca la expulsión de fármacos quimioterapéuticos contra el cáncer, como taxanos, inhibidores de la topoisomerasa y antimetabolitos.
Disminución de la activación del fármaco	Disminución de la conversión de profármacos (p. ej., 5-fluorouracilo) a sus formas activas debido a la regulación negativa de las enzimas que catalizan su activación.
Inactivación del fármaco	Los fármacos de platino (cisplatino y carboplatino) se inactivan por conjugación con glutatión.
Aumento de la expresión del objetivo del fármaco	Aumento de la expresión de la timidilato sintasa, el objetivo de los antimetabolitos como el 5-fluorouracilo.
Apoptosis disfuncional	Sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas, como la familia de proteínas BCL2, y disminución de la expresión de proteínas proapoptóticas, tales como BAX y BAK.
Activación de señalización en favor de la supervivencia	Activación de la señalización mediada por el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en respuesta a diversos fármacos quimioterapéuticos.
Modificación del microambiente tumoral	Aumento de la expresión de las integrinas (proteínas que unen células a la matriz extracelular), lo que inhibe la apoptosis y altera los objetivos farmacológicos.

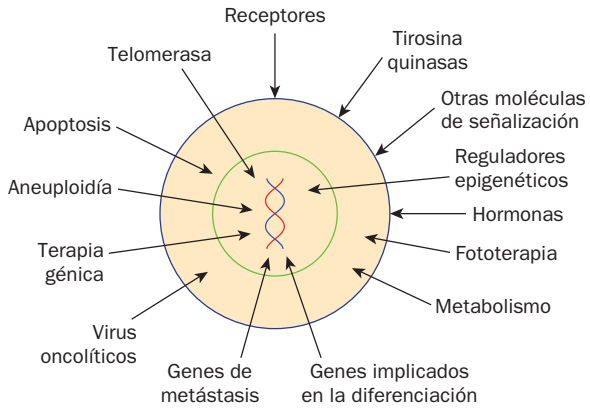


FIGURA 56-13 Ejemplos de objetivos para medicamentos contra el cáncer y algunas terapias emergentes, que se han desarrollado a partir de investigaciones relativamente recientes. No se muestran en la figura los agentes antiangiogénicos, las aplicaciones de la nanotecnología, las terapias dirigidas contra las células madre cancerígenas y los enfoques inmunológicos. La mayoría de los objetivos y terapias indicadas se tratan brevemente en el texto.

la terapia contra el cáncer es utilizar información nueva que surge de los estudios de inmunología básica, bioquímica y biología celular, molecular y del cáncer para desarrollar agentes más seguros y efectivos. La investigación intensiva durante las décadas pasadas ha resultado en una mejor comprensión de las alteraciones genéticas que subyacen en el desarrollo de tipos específicos de cáncer. Este conocimiento ha llevado a un cambio del uso de fármacos citotóxicos de amplio espectro a terapias que están diseñadas específicamente para atacar tumores individuales. Actualmente, un área principal de investigación es la identificación de **mutaciones del conductor** específicas, mutaciones que desempeñan papeles cruciales en el desarrollo de tumores (véase discusión sobre el cáncer colorrectal más arriba). **El análisis molecular del cáncer** en pacientes individuales permite a los oncólogos elegir el fármaco o la modalidad de tratamiento más apropiada que actúa en la anomalía molecular en cada tumor y controlar la eficacia de dicho(s) tratamiento(s) con el tiempo. Se ha demostrado que dicha **terapia anticancerígena personalizada** mejora significativamente la respuesta clínica a los fármacos y aumenta la supervivencia en varios tipos de cáncer. Una comprensión de las diferencias genéticas de los individuos en el metabolismo de los medicamentos contra el cáncer también puede ayudar a personalizar los tratamientos contra el cáncer.

La **figura 56-13** resume algunos de los objetivos de la terapia farmacológica y algunas terapias emergentes que se han desarrollado a partir de estudios de aspectos fundamentales del cáncer.

MUCHOS CÁNCERES PUEDEN PREVENIRSE

El tremendo sufrimiento individual causado por el cáncer y la pesada carga económica que impone a la sociedad hace que sea importante adoptar medidas para **prevenir el desarrollo del cáncer**. Los **factores de riesgo modificables** se han relacionado con una gran variedad de cánceres. Es probable que un número significativo de todos los cánceres en los países desarrollados se pudiera prevenir si las medidas resumidas en el **cuadro 56-17** fueran introducidas a nivel de toda la población.

CUADRO 56-17 Medidas de salud pública que podrían prevenir un número significativo de cánceres si se introdujeran a nivel de toda la población

- Reducción del consumo de tabaco
- Aumento de la actividad física
- Control del peso
- Dieta mejorada
- Ingesta limitada de alcohol
- Prácticas sexuales seguras
- Pruebas de detección de cáncer de rutina
- Evitar el exceso de exposición al sol

Fuente: Datos de Stein CJ, Colditz GA. Modifiable risk factors for cancer. *Brit J Cancer* 2004;90:299.

El uso del tabaco, en sus diversas formas, sigue siendo una de las principales causas de cáncer que afecta los pulmones, la boca, la laringe, el esófago y el estómago. Una campaña sostenida de educación pública con respecto a los efectos adversos del consumo de tabaco ha dado como resultado una disminución significativa en la incidencia de cánceres asociados con el consumo de tabaco. Se ha descubierto que las vacunas contra el virus del papiloma humano (HPV, *human papillomavirus*) (que se sabe está asociado con el cáncer del cuello uterino) y el virus de la hepatitis B (HBV, *hepatitis B virus*) (asociado con el carcinoma hepatocelular) son eficaces para disminuir la incidencia de cánceres causados por estos virus.

Se ha descubierto que la quimioprevención, que se refiere al uso de medicamentos para prevenir el desarrollo del cáncer, es efectiva en ciertos tipos de cáncer. Por ejemplo, se ha demostrado que el uso de moduladores del receptor de estrógeno (como el tamoxifeno) disminuye la incidencia de cáncer de mama en mujeres con alto riesgo en aproximadamente 50%. Del mismo modo, el uso de finasterida (un fármaco que inhibe la enzima, 5α-reductasa, que convierte la testosterona en dihidrotestosterona), se ha asociado con una menor incidencia de cáncer de próstata. También se ha demostrado que el uso a largo plazo de aspirina, que comúnmente se receta como agente antiplaquetario, se asocia con una menor incidencia de cáncer de colon.

En algunos casos, la identificación de factores genéticos de riesgo para el cáncer abre posibilidades para estrategias más novedosas en la prevención del cáncer. Por ejemplo, las mujeres que tienen mutaciones en los genes asociados al cáncer de mama, *BRCA1* y *BRCA2*, pueden someterse a una mastectomía profiláctica (cirugía para extirpar la mama) con el fin de mitigar cualquier riesgo futuro de desarrollar cáncer.

En general, la rápida progresión de la investigación en la biología del cáncer no sólo está abriendo nuevas formas para tratar esta enfermedad, sino también para disminuir y/o prevenir su aparición en primer lugar.

RESUMEN

- El cáncer es causado por mutaciones en los genes que controlan el crecimiento y la duplicación celular, la muerte celular (apoptosis) y las interacciones célula-célula (p. ej., adhesión celular). Otros aspectos importantes del cáncer son los defectos en las rutas de señalización celular, la estimulación de la angiogénesis, la aneuploidía y los cambios en el metabolismo celular y el microambiente celular.

- La mayoría de los cánceres probablemente se deba a errores de replicación (como se definió ampliamente) que afectan a las células somáticas. Sin embargo, se han identificado varios cánceres causados por factores hereditarios o ambientales.
- Las principales clases de genes implicados en el cáncer son oncogenes, genes supresores de tumores y genes que codifican proteínas importantes para la síntesis del DNA, la reparación del DNA y el metabolismo cromosómico.
- Las mutaciones que afectan a los genes que dirigen la síntesis y expresión de microRNA están implicadas en la oncogénesis.
- Los cambios epigenéticos que alteran la expresión génica se reconocen cada vez más en el cáncer (y en otras enfermedades); una razón para el interés en la epigenética es que las "marcas" epigenéticas son potencialmente reversibles por los fármacos.
- Los mecanismos de metástasis están siendo explorados intensamente; el descubrimiento de genes potenciadores y supresores de metástasis, entre otros hallazgos, puede conducir a nuevas terapias.
- La apoptosis, muerte celular programada, juega papeles importantes en la oncogénesis. Las células cancerígenas adquieren mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, prolongando y permitiendo su continua replicación.
- Las células cancerígenas muestran diversas alteraciones del metabolismo y de la captura y utilización de nutrientes.
- El desarrollo del cáncer es un proceso de varios pasos que implica cambios genéticos, epigenéticos y microambientales que confieren ventajas selectivas a los clones de las células, algunos de los cuales finalmente adquieren la capacidad de hacer metástasis con éxito. Debido a la diversidad de mutaciones, es posible que no haya dos tumores con genomas idénticos.
- La metástasis (la diseminación del cáncer a lugares distantes) se asocia con cambios en la expresión de las moléculas de adhesión celular y la modificación de la matriz extracelular que permiten que las células cancerígenas se separen y migren a lugares distantes.
- Es probable que las vesículas extracelulares (exosomas) liberadas por las células cancerígenas jueguen papeles importantes en la progresión del cáncer y la metástasis.
- Los biomarcadores tumorales pueden ayudar tanto en el diagnóstico precoz del cáncer como en la monitorización de la respuesta al tratamiento y en la detección de recurrencias.
- El diagnóstico de todo el genoma, el exoma y el tumor circulante derivado del secuenciamiento del DNA puede revelar actualmente las importantes mutaciones del conductor y del pasajero presentes en muchos tipos de cáncer y se está convirtiendo en un poderoso complemento para el tratamiento del paciente.
- Los avances en la comprensión de la biología molecular de las células cancerígenas han llevado a la introducción de una serie de nuevas terapias, con otras que están proyectadas.
- Varias estrategias han demostrado ser útiles para prevenir el cáncer. Estas incluyen la modificación de los factores de riesgo (como la disminución del consumo de tabaco en sus diversas formas), la vacunación contra virus causantes de tumores (como HPV y HBV), el uso de medicamentos (antiestrógenos en el cáncer de mama) y la cirugía modificadora de riesgos (mastectomía en mujeres con mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2*).

REFERENCIAS

Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, *et al*. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013;500:415-421.

Aravanis AM, Lee M, Klausner RD. Next-generation sequencing of circulating tuor DNA for early cancer detection. *Cell* 2017;168:571-574.

Borrebaick CAK. Precision diagnostis: moving towards protein biomarker signatures of clinical utility in cancer. *Nat Rev Cancer* 2017;17:199-204.

Dawson MA. The cancer epigenome: concepts, challenges, and therapeutic opportunities. *Science* 2017;355:1147-1152.

Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, *et al*. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumors, immune cells and microorganisms. *Nature Rev Cancer* 2013;13:759-771.

Green DR. *Means to an End: Apoptosis and Other Cell Death Mechanisms*. Cold Spring Harbor Press; 2010.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.

Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, *et al*. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. *Nat Rev Cancer* 2013;13:714-726.

Hu D, Shilatifard A. Epigenetics of hematopoiesis and hematological malignancies. *Genes Dev* 2016;30:2012-2041.

Lawrence MS, Stojanov P, Mermel CH, *et al*. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumor types. *Nature* 2014;505:495-501.

Ling H, Fabbri M, Calin GA. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12:847-865.

Ma P, Pan Y, Li W, *et al*. Extracellular vesicles-mediated noncoding RNAs transfer in cancer. *J Hematol Oncol* 2017;10:57.

Martinez P, Blasco MA. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *J Cell Biol* 2017;216:875-887.

Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2017;17:79-92.

Pavalova NN, Thompson B. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab* 2016;23:27-47.

Shi J, Kantoff PW, Wooster R, Farokhzad OC. Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nat Rev Cancer* 2017;17:-20-37.

Tomasetti C, Li L, Vogelstein B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer preventation. *Science* 2017;355:1330-1334.

Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, *et al*: Cancer genome landscapes. *Science* 2013;339:1546-1558. (This is one of four reviews on cancer biology in this issue of *Science*.)

Weinberg R. *The Biology of Cancer*. 2nd ed. Garland Science; 2013.

Yachida S, Jones S, Bozic I, *et al*. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature* 2010;467(7319):-1114-1117.

Zhao J, Lawless MW. Stop feeding cancer: proinflammatory role of visceral adiposity in liver cancer. *Cytokine* 2013;64:626-637.

SITIOS WEB ÚTILES

American Cancer Society. http://www.cancer.org

National Cancer Institute, US National Institute of Health. http://www.cancer.gov

The Cancer Genome Atlas. http://cancergenome.nih.gov

National Cancer Institute Genomic Data Commons. http://gdc.cancer.gov

Nature. TCGA (2011, 2012, 2013, 2014). TCGA pan-cancer analysis. http://www.nature.com/tcga/

GLOSARIO

Análisis de Ames: Un sistema de análisis ideado por el Dr. Bruce Ames que utiliza *Salmonella typhimurium* especialmente diseñada para detectar mutágenos. La mayoría de los carcinógenos son mutágenos, pero si se detecta la mutagenicidad de un químico, lo ideal debe ser que tales compuestos químicos se sometan a pruebas de carcinogenicidad mediante pruebas con animales.

Aneuploidía: Se refiere a cualquier condición en la que el número de cromosomas de una célula no sea un múltiplo exacto del número haploide básico. La aneuploidía se encuentra en muchas células tumorales y puede desempeñar un papel fundamental en el desarrollo del cáncer.

Angiogénesis: La formación de nuevos vasos sanguíneos. La angiogénesis suele ser activa alrededor de las células tumorales, lo que garantiza que obtengan un suministro adecuado de sangre. Un número de factores de crecimiento son secretados por el tumor y las células circundantes (p. ej., el factor de crecimiento endotelial vascular o VEGF, *vascular endotelial growth factor*) y están involucrados en este proceso.

Apoptosis: Muerte celular debido a la activación de un programa genético que causa la fragmentación del DNA celular y otros cambios. Las caspasas juegan un papel central en el proceso. Muchos reguladores positivos y negativos lo afectan. La proteína p53 induce la apoptosis como respuesta al daño del DNA celular. La mayoría de las células cancerígenas muestran anomalías de apoptosis, debido a varias mutaciones que ayudan a asegurar su supervivencia prolongada.

Cáncer: Un crecimiento maligno de las células.

Carcinógeno: Cualquier agente (p. ej., un químico o radiación) capaz de causar que las células se vuelvan cancerígenas.

Carcinoma: Un crecimiento maligno de origen epitelial. Un cáncer de origen glandular o que muestra características glandulares generalmente se designa como un adenocarcinoma.

Caspasas: Enzimas proteolíticas que juegan un papel central en la apoptosis, pero también están involucradas en otros procesos. Alrededor de 15 están presentes en los humanos. Las caspasas hidrolizan los enlaces peptídicos sólo en el terminal C en los residuos de aspartato.

Célula madre cancerígena: Una célula dentro de un tumor que tiene la capacidad de autorrenovarse y de dar origen a los linajes heterogéneos de las células cancerígenas que se encuentran en el tumor.

Células malignas: Son células cancerígenas, con la capacidad de crecer de manera desenfrenada, invadir y diseminarse (hacer metástasis) a otras partes del cuerpo.

Centriolo: Conjunto de microtúbulos emparejados que se encuentran en el centro de un centrosoma (**véase también "Centrosoma"**).

Centrómero: La región restringida de un cromosoma mitótico donde las cromátidas se unen. Está muy cerca del cinetocoro. Las anomalías de los centrómeros pueden contribuir a la CIN (**véase también "Cinetocoro"**).

Centrosoma: Un organelo ubicado en el centro que es el centro principal organizador de microtúbulos de una célula. Actúa como el polo del eje durante la división celular.

Ciclo celular: Los diversos eventos que ocurren a medida que una célula va de una mitosis a otra.

Cinetocoro: Estructura que se forma en cada cromosoma mitótico adyacente al centrómero. Las mutaciones que afectan las estructuras de sus proteínas componentes podrían contribuir a causar CIN (véase también "**Centrómero**").

Clon: Todas las células de un clon se derivan de una célula principal.

Complejo de pasajeros cromosómico: Un complejo de proteínas que desempeña un papel clave en la regulación de la mitosis. En el centrómero, dirige la alineación del cromosoma y participa en el ensamblaje del eje. Sus proteínas incluyen la aurora B quinasa y la survivina. Las mutaciones que afectan a sus proteínas pueden contribuir a la CI y la aneuploidía.

Cromatida: Un solo cromosoma.

Cromosoma Filadelfia: Cromosoma formado por una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22. Es la causa de la leucemia mieloide crónica (CML, *chronic myeloid leukemia*). Para formar el cromosoma anómalo, parte del gen *BCR* (región del grupo del punto de interrupción) del cromosoma 22 fusiona parte del gen *ABL* (codifica una tirosina quinasa) del cromosoma 9, dirigiendo la síntesis de una proteína quimérica que tiene actividad de tirosina quinasa no regulada e impulsa la proliferación celular. La actividad de esta quinasa es inhibida por el medicamento imatinib (Gleevec), que se ha utilizado con éxito para tratar la CML (véase también "**Translocación cromosómica**").

Deslizamiento de replicación: Un proceso en el que, debido a la mala alineación de las cadenas de DNA donde se producen las secuencias repetidas, la DNA polimerasa se detiene y se disocia, dando como resultado eliminaciones o inserciones de secuencias repetidas.

Epigenética: Se refiere a cambios en la expresión génica sin un cambio de la secuencia de bases en el DNA. Los factores que causan cambios epigenéticos incluyen la metilación de las bases en el DNA, las modificaciones de *postraducción* de las histonas y la remodelación de la cromatina.

Factores de crecimiento: Una variedad de polipéptidos secretados por muchas células normales y tumorales. Estas moléculas actúan a través de modos autocrinos (afecta a las células que producen el factor de crecimiento), paracrinos (afecta a las células vecinas) o endocrinos (viaja en la sangre para afectar a las células distantes). Estimulan la proliferación de células blanco mediante interacciones con receptores específicos. También tienen muchas otras propiedades biológicas.

Factores inducibles por hipoxia (HIF, *hypoxia-inducible factors*): Una familia de factores de transcripción (al menos tres) importantes para dirigir las respuestas celulares a niveles variables de oxígeno. Cada factor está formado por una subunidad α diferente regulada por oxígeno y una subunidad β constitutiva común. A niveles fisiológicos de oxígeno, la subunidad α experimenta una degradación rápida, iniciada por prolil hidroxilasas. Los HIF tienen varias funciones: por ejemplo, HIF-1 regula positivamente varios genes que codifican enzimas de la glucólisis, y también la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

Gen supresor tumoral: Un gen cuyo producto proteico normalmente restringe el crecimiento celular, pero cuando su actividad se pierde o se reduce por la mutación, contribuye al desarrollo de una célula cancerígena.

Guardián: Una versión mutada de un gen que inicia la cascada de eventos que causan la oncogénesis (p. ej., *RB*).

Inestabilidad cromosómica (CIN, *chromosomal instability*): El nivel de ganancia o pérdida de cromosomas completos o segmentos de ellos causado por anomalías de la segregación cromosómica durante la mitosis. (Véase también **"Inestabilidad del genoma"** e **"Inestabilidad de microsatélites"**). Hay una serie de trastornos que se denominan síndromes CIN porque están asociados con anomalías cromosómicas. Se encuentra una mayor incidencia de varios cánceres en estas condiciones.

Inestabilidad de microsatélites: Expansión o contracción de repeticiones cortas en tándem (microsatélites) debido al deslizamiento de la replicación, anomalías en la reparación del desajuste o de la recombinación homóloga. Para "**Microsatélites**", véase capítulo 35.

Inestabilidad del genoma: Se refiere a una serie de alteraciones del genoma, de las cuales las dos principales son la CIN y la inestabili-

dad de microsatélites. En general, refleja el hecho de que los genomas de las células cancerígenas son más sensibles a las mutaciones que las células normales, en parte debido a la alteración de los sistemas de reparación del DNA.

Leucemias: Variedad de enfermedades malignas en las que proliferan diversas células blancas (p. ej., mieloblastos, linfoblastos, etc.) de manera desenfrenada. Las leucemias pueden ser agudas o crónicas.

Linfoma de Burkitt: Este es un linfoma de células B, endémico en partes de África, donde afecta principalmente la mandíbula y los huesos faciales. También se encuentra en otras partes. Es característica una translocación recíproca que implica el gen *C-MYC* en el cromosoma 8 y el gen de cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14.

Linfoma: Un grupo de neoplasias que surgen en los sistemas reticuloendotelial y linfático. Los miembros principales del grupo son los linfomas Hodgkin y no Hodgkin.

Metástasis: La capacidad de las células cancerígenas para diseminarse a partes distantes del cuerpo y crecer allí.

Modificadores de la respuesta biológica: Moléculas producidas por el cuerpo o en el laboratorio que cuando se administran a pacientes alteran la respuesta del cuerpo a la infección, la inflamación y otros procesos. Los ejemplos incluyen anticuerpos monoclonales, citocinas, interleuquinas, interferones y factores de crecimiento.

Mutación del conductor: Una mutación en un gen que ayuda a provocar cáncer o lo acelera. Las mutaciones que se encuentran en tumores que no causan cáncer o la progresión de este se denominan mutaciones de pasajeros.

Nanotecnología: El desarrollo y la aplicación de dispositivos que tienen sólo unos pocos nanómetros de tamaño (10^{-9}m = 1nm). Algunos se están aplicando a la terapia contra el cáncer.

Necrosis: Muerte celular provocada por productos químicos o una lesión tisular. Varias enzimas hidrolíticas se liberan y digieren moléculas celulares. No es un proceso genéticamente programado, como lo es la apoptosis. Las células afectadas generalmente estallan y liberan su contenido, causando inflamación local.

Neoplasia: Cualquier nuevo crecimiento de tejido, benigno o maligno.

Oncogén: Un gen celular mutado (es decir, protooncogén) cuyo producto proteico está implicado en la transformación de una célula normal en una célula cancerígena.

Oncología: El área de la ciencia médica que se ocupa de todos los aspectos del cáncer (causas, diagnóstico, tratamiento, etc.).

Pérdida de heterocigocidad (LOH, *loss of heterozygosity*): Ocurre cuando hay una pérdida del alelo normal (que a menudo codifica un gen supresor tumoral) de un par de cromosomas heterocigotos, lo que permite que los resultados del alelo defectuoso se manifiesten clínicamente.

Pólipo adenomatoso: Un tumor benigno de origen epitelial que tiene el potencial de convertirse en un carcinoma. Los adenomas son a menudo polipoides. Un pólipo es un crecimiento que sobresale de una membrana mucosa; la mayoría son benignos, pero algunos pólipos pueden volverse malignos.

Procarcinógeno: Un químico que se convierte en un carcinógeno cuando se altera por el metabolismo.

Protooncogén: Un gen celular normal, que cuando muta puede dar lugar a un producto que estimula el crecimiento de las células, lo que contribuye al desarrollo del cáncer.

Receptor FAS: Un receptor que inicia la apoptosis cuando se une a su ligando, FAS. La FAS es una proteína presente en la superficie de células asesinas naturales activadas, linfocitos T citotóxicos y otras fuentes.

Remodelación de cromatina: Implica cambios conformacionales o covalentes de nucleosomas provocados por las acciones de complejos multiproteicos (como el complejo SW1/SNF). Estos cambios alteran la transcripción genética (activándola o desactivándola, dependiendo de las condiciones específicas). Las mutaciones que afectan a las diferentes proteínas de estos complejos se encuentran a menudo en las células cancerígenas (véase también **"Epigenética"**).

Retinoblastoma: Un tumor raro de la retina. La mutación del gen supresor tumoral *RB* juega un papel clave en su desarrollo. Los pacientes con retinoblastomas hereditarios han heredado una copia mutada del gen *RB* y sólo necesitan una mutación más para desarrollar el tumor. Los pacientes con retinoblastomas esporádicos nacen con dos copias normales y requieren dos mutaciones para inactivar el gen.

Sarcoma: Un tumor maligno de origen mesenquimal (p. ej., procedente de células de la matriz extracelular u otras fuentes).

Síndrome de Bloom: Uno de los síndromes de inestabilidad cromosómica (CIN). Debido a las mutaciones en una helicasa de DNA, los sujetos son sensibles al daño del DNA y pueden desarrollar varios tumores.

Telómeros: Estructuras en los extremos del cromosoma que contienen múltiples repeticiones de secuencias específicas de DNA de hexanucleótidos. Los telómeros de las células normales se acortan en la división celular repetida, lo que puede provocar la muerte celular. La enzima telomerasa replica los telómeros y a menudo se expresa en las células cancerígenas, lo que ayuda a evitar la muerte celular. La telomerasa no se detecta generalmente en las células somáticas normales.

Transformación: Proceso mediante el cual las células normales en el cultivo de tejidos cambian a células anómalas (p. ej., por virus o productos químicos oncógenos), algunas de las cuales pueden ser malignas.

Translocación cromosómica: Cuando parte de un cromosoma se fusiona con otro, provoca a menudo la activación de un gen en el sitio. El cromosoma Filadelfia (véase arriba) es uno de los muchos ejemplos de una translocación cromosómica involucrada en la causa del cáncer.

Translocación: El desplazamiento de una parte de un cromosoma a un cromosoma diferente o a una parte diferente del mismo cromosoma. Los ejemplos clásicos son la translocación encontrada en el linfoma de Burkitt (véase arriba) y la translocación entre los cromosomas 9 y 22, que causa la aparición del cromosoma Filadelfia que se encuentra en la leucemia mielógena crónica. Se han encontrado translocaciones en muchas células cancerígenas.

Tumor benigno: Una masa de células proliferantes anómalas cuyo crecimiento está impulsado por mutaciones en al menos un supresor tumoral u oncogén. Estas células tumorales no son invasivas y no hacen metástasis.

Tumor: Cualquier nuevo crecimiento de tejido, pero generalmente se refiere a una neoplasia benigna o maligna.

Variaciones del número de copias (CNV, *copy number variations*): Variaciones (debido a duplicaciones o eliminaciones) entre individuos en cuanto al número de copias que tienen de genes particulares. Las CNV están siendo cada vez más reconocidas por varios genes, y algunas pueden estar asociadas con diversas enfermedades, incluyendo ciertos tipos de cáncer.

Virus del sarcoma de Rous (RSV, *Rous sarcoma virus*): Un virus tumoral de RNA que causa sarcomas en gallinas. Fue descubierto en 1911 por Peyton Rous. Es un retrovirus que usa transcriptasa inversa en su replicación; la copia de DNA de su genoma se integra posteriormente en el genoma de la célula huésped. Ha sido ampliamente utilizado en estudios del cáncer, y su uso ha llevado a muchos hallazgos importantes.

CAPÍTULO

57

La bioquímica del envejecimiento

Peter J. Kennelly, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Describir las características esenciales de las teorías de desgaste natural del envejecimiento.
- Enumerar cuatro o más componentes ambientales comunes conocidos por dañar las macromoléculas biológicas, como las proteínas y el ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*).
- Explicar por qué las bases de nucleótidos son especialmente vulnerables al daño.
- Describir la diferencia más importante desde el punto de vista fisiológico entre los genomas mitocondriales y nucleares.
- Describir la teoría oxidativa del envejecimiento.
- Enumerar las fuentes primarias de especies reactivas de oxígeno (ROS, *reactive oxygen species*) en humanos.
- Describir tres mecanismos por los cuales las células previenen o reparan el daño infligido por ROS.
- Describir los principios básicos de las teorías metabólicas del envejecimiento.
- Explicar el mecanismo de "cuenta regresiva" de los telómeros.
- Describir nuestra actual comprensión de la contribución genética al envejecimiento.
- Explicar los beneficios de los organismos modelo a la investigación biomédica.

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Considere las diversas etapas en la vida del *Homo sapiens*. La infancia y la niñez se caracterizan por un crecimiento continuo en altura y masa corporal. Se desarrollan las habilidades básicas motrices e intelectuales: caminar, lenguaje, etc. La infancia y la niñez también representan un periodo de vulnerabilidad en el que un niño depende de los adultos para obtener agua, alimento, refugio, protección e instrucción. La adolescencia es testigo de un acelerón final de crecimiento en el marco esquelético del cuerpo. Lo que es más importante, se producen una serie de cambios dramáticos en el desarrollo –una acumulación de masa muscular, maduración de las gónadas y el cerebro y la aparición de características sexuales secundarias– que transforman a un niño en un adulto independiente y apto para la reproducción. La adultez, la etapa más larga, es un periodo desprovisto de crecimiento físico dramático o cambio en el desarrollo. Con la notable excepción del embarazo en las mujeres, no es inusual que los adultos mantengan el mismo peso corporal, apariencia general y nivel general de actividad durante dos décadas o más.

Salvo enfermedades o lesiones fatales, el inicio de la etapa final de la vida, la vejez, se caracteriza por un resurgimiento de cambios físicos y fisiológicos. La masa muscular y ósea disminuye de manera progresiva. El cabello comienza a adelgazar y pierde su pigmentación. La piel pierde su flexibilidad y acumula imperfecciones. Periodo de atención y disminución de la memoria. Eventual e inevitablemente, la vida misma llega a su fin a medida que disminuyen las funciones corporales esenciales.

Comprender las causas subyacentes y los desencadenantes de inicio del envejecimiento y los cambios que lo acompañan es de gran importancia biomédica. Hutchison-Gilford, Werner y el síndrome de Down son tres enfermedades genéticas humanas cuyas patologías incluyen una aceleración de muchos de los eventos fisiológicos asociado con el envejecimiento. Disminuir o prevenir algunos de los procesos degenerativos que causan o acompañan el envejecimiento pueden hacer que las últimas etapas de la vida sean más vitales, productivas y satisfactorias. Identificar los factores responsables de desencadenar la muerte celular puede permitir a los médicos destruir selectivamente tumores dañinos, pólipos y quistes.

CUADRO 57-1 Expectativa de vida promedio por década, Estados Unidos

Periodo de la muestra	Promedio de esperanza de vida (años)	
	De nacimiento	Si sobrevivió a 5 años de edad
1900-1902	49.24	59.98
1909-1911	51.49	61.21
1919-1921	56.40	62.99
1929-1931	59.20	64.29
1939-1941	63.62	67.49
1949-1951	68.07	70.54
1959-1961	69.89	72.04
1969-1971	70.75	72.43
1979-1981	73.88	75.00
1989-1991	75.37	76.22
1999-2001	76.83	77.47

Fuente: Adaptado de la tabla 12 de *National Vital Statistics Reports* (2008);57, vol(1).

ESPERANZA DE VIDA CONTRA LONGEVIDAD

Desde el Paleolítico hasta la Edad Media, la expectativa de vida promedio de un bebé recién nacido oscilaba en un rango de 25 a 35 años. Sin embargo, a partir del Renacimiento, este número aumentó de forma gradual de tal manera que, a principios del siglo XX, la expectativa de vida promedio de las personas nacidas en los países desarrollados alcanzó aproximadamente los 40 años. Hoy, 100 años más tarde, el promedio en el mundo actual es de 67 años y para los países desarrollados se acerca a los 80. Estos incrementos dramáticos han llevado a la especulación sobre cuánto tiempo se puede esperar que esta tendencia continúe. ¿Pueden las futuras generaciones vivir más allá de la marca del siglo? ¿Es posible que los seres humanos posean el potencial, con el cuidado y el mantenimiento adecuados, para vivir indefinidamente?

Lamentablemente, es poco probable que se lleven a cabo tales extrapolaciones porque se basan en un malentendido del término **expectativa de vida**. La expectativa de vida se calcula por el promedio sobre todos los nacimientos. Por tanto, está dramáticamente influenciado por las tasas de mortalidad infantil. En tanto que la expectativa de vida de un niño romano era de 25 años, si uno calculaba la esperanza de vida esperada sólo para aquellas personas que sobrevivieron a la infancia, lo cual llamaremos **longevidad**, el promedio casi se duplicaba a 48. Cuando un factor fuera de la dramática disminución de las tasas de mortalidad infantil que ha tenido lugar durante el último siglo y medio, la longevidad predicha de un niño de 5 años en Estados Unidos ha aumentado de 70.5 en 1950 a 77.5 años en 2000 (**cuadro 57-1**). ¿Hay algún tipo de límite superior a la esperanza de una vida de un ser humano bien cuidado, protegido y alimentado adecuadamente?

ENVEJECIMIENTO Y MORTALIDAD: ¿PROCESOS NO ESPECÍFICOS O PROGRAMADOS?

¿El envejecimiento y la muerte son procesos no determinantes o **estocásticos** en los que las criaturas vivas inevitablemente alcanzan un punto de inflexión después de la acumulación de daño por enfermedad, lesión y simple desgaste? ¿Alternativamente, el envejecimiento y la muerte son procesos programados genéticamente análogos a la pubertad que han evolucionado a través de un proceso de selección natural? En todas las probabilidades el envejecimiento y la muerte son procesos multifactoriales a los que contribuyen tanto los factores estocásticos como los programados.

TEORÍAS DEL DESGASTE NATURAL DEL ENVEJECIMIENTO

Muchas teorías sobre el envejecimiento y la mortalidad plantean la hipótesis de que el cuerpo humano finalmente sucumbe a la acumulación de daño a lo largo del tiempo como resultado de una lesión y exposición en largo plazo a factores ambientales que degradan las biomoléculas orgánicas. Estas teorías tienen en cuenta que, aunque los mecanismos de reparación y cambio existen para restaurar o reemplazar muchas clases de moléculas dañadas, son menos que perfectas. Por tanto, inevitablemente se filtra algo de daño, que se acumulará con el tiempo, en particular entre aquellas poblaciones de células que experimentan poca o ninguna rotación (**cuadro 57-2**). Irónicamente, muchos de estos agentes son esenciales para la vida terrestre: agua, oxígeno y luz solar.

Las reacciones hidrolíticas pueden dañar las proteínas y los nucleótidos

El agua es un nucleófilo relativamente débil. Sin embargo, debido a su ubicuidad y alta concentración (>55 M, véase capítulo 2), incluso este nucleófilo débil en ocasiones reaccionará con objetivos susceptibles dentro de la célula. En las proteínas, aunque la hidró-

CUADRO 57-2 Tiempo requerido para reemplazar todas las células promedios de este tipo

Tipo de célula o tejido	Cambio
Epitelio intestinal	34 h[a]
Epidermis	39 d[b]
Leucocito	<1 y[c]
Adipocito	9.8 y[c]
Músculo esquelético intercostal	15.2 y[c]
Cardiomiocitos	≥100 y[c]

Fuente: Datos de:
[a] Potten CS, Kellett M, Rew DA, *et al*. Proliferation in human gastrointestinal epithelium using bromodeoxyuridine in vivo. Gut 1992;33:524.
[b] Weinstein GD, McCullough JL, Ross P. Cell proliferation in normal epidermis. *J Invest Dermatol* 1984;82:623.
[c] Spalding KL, RNAer E, Westermark PO, *et al*. Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature 2008;453:783.

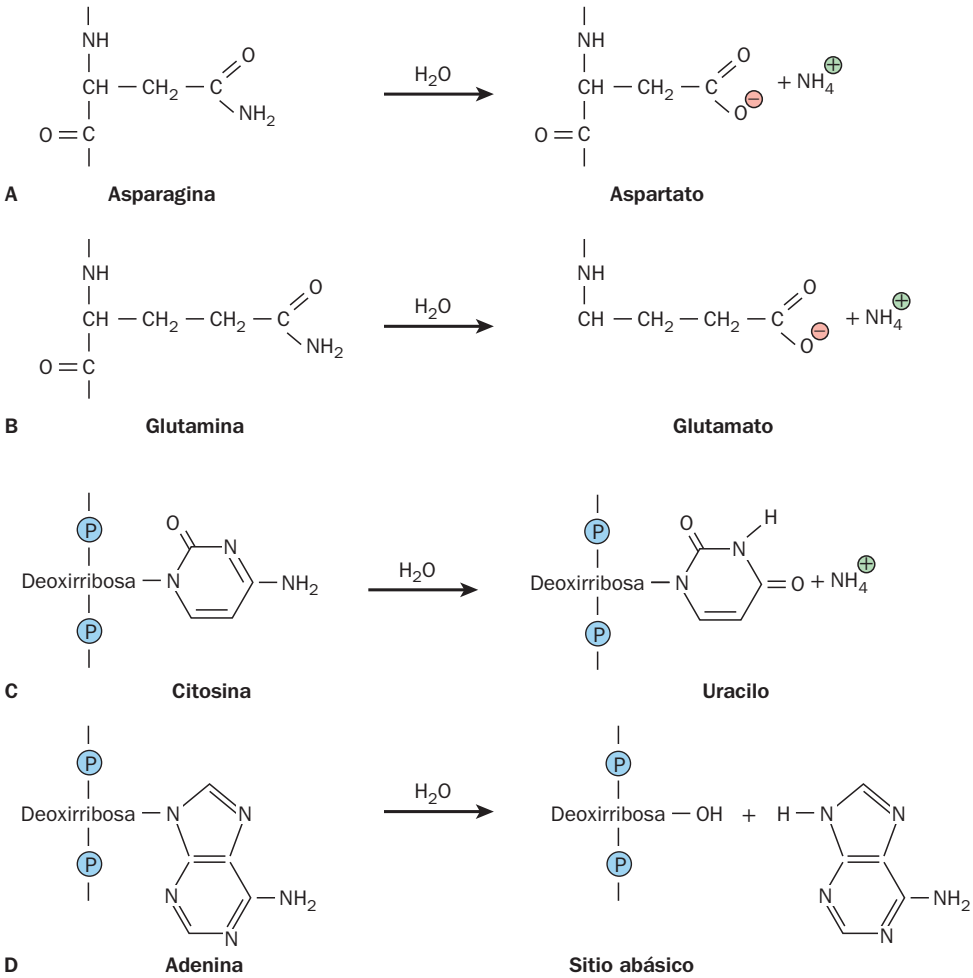


FIGURA 57-1 Ejemplos de daño hidrolítico a macromoléculas biológicas. Se muestran algunas de las formas en que el agua puede reaccionar y alterar químicamente las proteínas y el DNA: **A)** Sustitución de la red del ácido aspártico a través de la desamidación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la asparagina. **B)** Sustitución de la red del ácido glutámico a través de la desamidación hidrolítica de la cadena lateral neutra de la glutamina. **C)** Mutación de la red de citosina a uracilo por agua. **D)** Formación de un sitio abásico en el DNA mediante escisión hidrolítica de un enlace ribosa-base.

lisis de un enlace peptídico puede cortar una cadena polipeptídica, el enlace amida más vulnerable se encuentra con frecuencia en las cadenas laterales expuestas de los aminoácidos asparagina y glutamina. La hidrólisis transforma sus amidas neutras en carboxilatos ácidos y potencialmente cargados de manera negativa, produciendo aspartato y glutamato, respectivamente (**figura 57-1A** y **B**). Como la mayoría de las proteínas dentro de un organismo vivo están sujetas a cambio regular, en muchos casos la proteína químicamente modificada de manera eventual será degradada y reemplazada por una nueva versión sintetizada.

Los grupos amino que se proyectan desde los anillos aromáticos heterocíclicos de las bases de nucleótidos citosina, adenina y guanina son susceptibles al ataque hidrolítico. En cada caso, el grupo amino se reemplaza por un carbonilo para formar uracilo, hipoxantina y xantina, respectivamente (**figura 57-1C**). El vínculo entre la base de nucleótidos y la mitad de la desoxirribosa en el DNA también es vulnerable a la hidrólisis. En este caso, la base se elimina por completo, dejando un espacio en la secuencia (**figura 57-1D**). La eliminación de la hidrólisis o la alternancia de las bases de nucleótidos en el DNA tiene una importancia biomédica potencialmente mucho mayor que aquellas que afectan a las proteínas, ya que la primera –si no se repara (véase capítulo 35)– producirán una mutación genética.

Otros enlaces biológicamente relevantes que son susceptibles a la hidrólisis incluyen los enlaces éster que conectan los ácidos grasos con sus glicerolípidos afines, los enlaces glucosídicos que unen las unidades de carbohidratos monosacáridos y los enlaces fosfodiéster que mantienen unidos a los polinucleótidos y unen los grupos de cabeza de los fosfolípidos a sus parejas de diacilglicerol. En la mayoría de los casos, con la notable excepción de las roturas de la cadena de polinucleótidos, los productos de estas reacciones parecen ser biológicamente inocuos.

La respiración genera especies reactivas de oxígeno

Numerosos procesos biológicos requieren oxidación catalizada por enzimas de moléculas orgánicas por oxígeno molecular (O_2). Estos

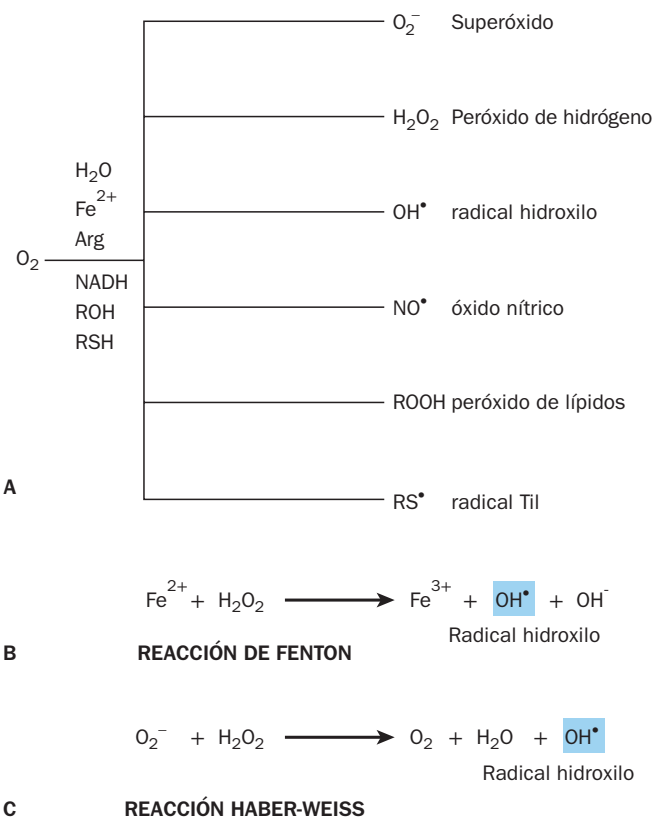


FIGURA 57-2 Las especies reactivas del oxígeno (ROS) son subproductos tóxicos de la vida en un entorno aeróbico. **A)** Muchos tipos de ROS se encuentran en las células vivas. **B)** Generación de radical hidroxilo a través de la reacción de Fenton. **C)** Generación de radical hidroxilo por reacción Haber-Weiss.

procesos incluyen la hidroxilación de las cadenas laterales de prolina y lisina en el colágeno (véase capítulo 5), la desintoxicación de xenobióticos por el citocromo P450 (véase capítulo 47), la degradación de nucleótidos de purina a ácido úrico (véase capítulo 33), la reoxidación de los grupos prostéticos en las enzimas que contiene flavina que catalizan la descarboxilación oxidativa (p. ej., el complejo de piruvato deshidrogenasa, véase capítulo 17) y otras reacciones redox (p. ej., aminoácidos oxidasas, véase el capítulo 28), y la generación del gradiente quimiosmótico en las mitocondrias por la cadena de transporte de electrones (véase capítulo 13). Las enzimas redox con frecuencia emplean grupos protésicos como nucleótidos de flavina, centros de hierro-azufre o iones metálicos unidos al hem (véanse capítulos 12 y 13) para ayudar a generar y estabilizar los radicales libres y los intermedios de oxianión formados durante estos procesos.

En ocasiones, estos intermediarios altamente reactivos escapan para formar ROS, como superóxido y peróxido de hidrógeno dentro de la célula (**figura 57-2A**). La más común de estas fuentes es la cadena de transporte de electrones, cuyos altos niveles de flujo de electrones y complejidad estructural lo vuelven vulnerable a la "fuga" de ROS. Además, muchas células de mamíferos sintetizan y liberan óxido nítrico (NO*), un radical libre que contiene un segundo mensajero que promueve la vasodilatación y la relajación muscular en el sistema cardiovascular (véase capítulo 55).

Las especies reactivas de oxígeno son químicamente prolíficas

La reactividad extremadamente alta de ROS los hace muy peligrosos. ROS puede reaccionar y alterar de manera química casi cualquier compuesto orgánico, incluidas las proteínas, los ácidos nucleicos y los lípidos. ROS también muestra una fuerte tendencia a formar **aductos** —productos formados por la combinación de precursores— con compuestos biológicos que contienen múltiples enlaces dobles, como bases de nucleótidos y ácidos grasos poliinsaturados (**figura 57-3**). Los aductos formados con bases de nucleótidos pueden ser en especial peligrosos debido a su potencial, si no se corrige, de causar errores de generación de mutaciones durante la replicación del DNA.

La facilidad con la que la exposición al aire caliente puede convertir rancia la mantequilla casera es un testimonio de la reactividad de las grasas insaturadas, las que contienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono (véase capítulo 23), con ROS. La peroxidación de lípidos resultante puede conducir a la formación de aductos lípido-lípido reticulados y proteína-lípido que pueden comprometer la fluidez e integridad de la membrana. En la mitocondria, una pérdida de la integridad de la membrana puede reducir la eficiencia con la cual la cadena de transporte de electrones genera ATP y aumenta la fuga de ROS deletéreas. El daño acumulado de las membranas mitocondriales puede conducir finalmente a la salida del citocromo c, un inductor de muerte celular programada o **apoptosis** (véase más abajo).

Las reacciones en cadena multiplican la destructividad de ROS

La capacidad destructiva inherente a la alta reactividad de muchos ROS, en particular los radicales libres, se ve agravada por su capacidad de participar en reacciones en cadena en las que el producto de la reacción incluye no sólo una biomolécula dañada sino también otra especie de radicales libres capaz de producir más daño y también otro subproducto radical. Esta cadena de eventos continuará hasta que un intermediario de radicales libres pueda emparejar su electrón radical, tal vez al encontrar otro radical libre o un redox protector tal como glutatión reducido. De manera alternativa, los ROS pueden ser eliminados por uno de los conjuntos de enzimas antioxidantes dedicadas de la célula (véanse capítulos 12 y 53).

La reactividad, y por tanto la destructividad, de ROS individuales varía. El peróxido de hidrógeno, por ejemplo, es menos reactivo que el superóxido, que a su vez es menos reactivo que el radical hidroxilo ($OH^\bullet$). Existen dos vías por las cuales el radical hidroxilo altamente tóxico se puede generar a partir de ROS menos destructivas. Si el hierro ferroso (+2) está presente, la reacción de Fenton puede transformar el peróxido de hidrógeno en radicales hidroxilo (figura 57-2B). El hierro férrico (+3), a su vez, puede reducirse nuevamente al estado ferroso (+2) mediante otras moléculas de peróxido de hidrógeno, permitiendo que el hierro actúe como un catalizador para la producción de radicales de hidroxilo adicional. El radical hidroxilo también se puede generar cuando el superóxido y el peróxido de hidrógeno se desproporcionan mediante la reacción de Haber-Weiss (figura 57-2C).

Radicales libres y la teoría mitocondrial del envejecimiento

En 1956, Denham Harmon propuso la llamada teoría de radicales libres del envejecimiento. Se había informado que la toxicidad del

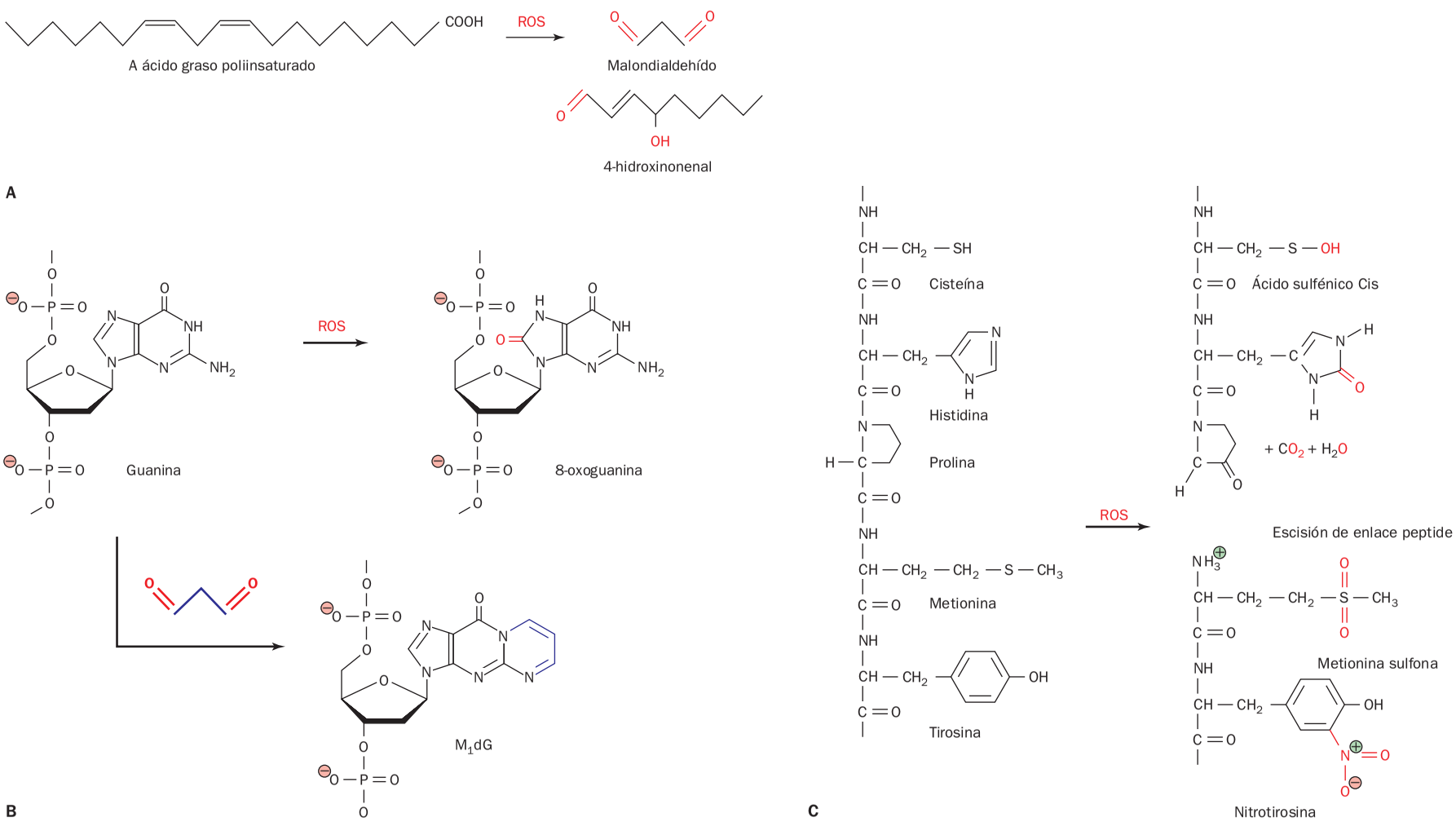


FIGURA 57-3 **ROS reacciona directa e indirectamente con una amplia gama de moléculas biológicas. A)** La peroxidación de lípidos insaturados genera productos reactivos tales como malondialdehído y 4-hidroxinonenal. **B)** La guanina puede ser oxidada de manera directa por ROS para producir 8-oxoguanina o formar un aducto, M_1dG, con el producto de malondialdehído de ROS. **C)** las reacciones comunes de proteínas con ROS, incluida la oxidación de cadenas laterales de aminoácidos y la escisión de enlaces peptídicos. Los átomos de oxígeno derivados de ROS están marcados en rojo. Los átomos de carbono derivados de malondialdehído en M_1dG son de color azul. El nombre químico completo para M_1dG es 3- (2-Deoxy-D- *eritro* -pentofuranosil) pirimido (1,2-α) purin-10(3H) -uno.

CUADRO 57-3 Genes codificados por el genoma de las mitocondrias humanas

rRNA	12S, 16S rRNA
tRNA	22 tRNA (2 para Leu y Ser)
Subunidades de NADH- ubiquinona oxidorreductasa (Complejo I, >40 en total)	ND 1-6, ND 4L
Subunidades de ubiquinol-citocromo c oxidorreductasa (Complejo III, 11 en total)	Citocromo b
Subunidades del citocromo oxidasa (Complejo IV, 13 en total)	COX I, COX II, COX III
Subunidades de ATPasa F_1, F_0 (ATP sintasa, 12 en total)	ATPasa 6, ATPasa 8

tratamiento y la radiación de oxígeno hiperbárico podrían explicarse por un factor común a ambos, la generación de ROS. Este informe encajó muy bien con la propia observación de Harmon de que la duración de la vida estaba relacionada de forma inversa con la tasa metabólica y, por extrapolación, la respiración. Por tanto, postuló que el daño acumulativo fue causado por la producción continua e ineludible de ROS.

En años más recientes, los defensores de la teoría del envejecimiento de los radicales libres han centrado su atención en las mitocondrias. Las mitocondrias no sólo albergan la fuente dominante de ROS en la célula, la cadena de transporte de electrones, sino también el daño oxidativo de los componentes de esta vía podría conducir a un aumento en los rendimientos de ROS. El daño a las mitocondrias también podría afectar de manera negativa la eficiencia de la tasa con la que generan trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) tal vez hasta el punto en que socava la vitalidad y la función de la célula.

Un segundo contribuyente al ciclo del daño de redox mitocondrial es el genoma autóctono de la mitocondria. El genoma mitocondrial es un vestigio remanente muy reducido del genoma de la antigua bacteria que fue el precursor del orgánulo actual. Se presume que los eucariotas primitivos se volvieron dependientes de las bacterias circundantes para proporcionar ciertos materiales, lo que eventualmente cimentó la relación por **endosimbiosis**, la internalización de la bacteria más pequeña.

Con el tiempo la mayoría, pero no todos los genes, contenidos en el genoma de la bacteria fueron eliminados o transferidos al DNA nuclear del huésped eucariótico. Hoy, el genoma de la mitocondria humana codifica dos ácidos ribonucleicos (RNA, *ribonucleic acids*) ribosomales (uno para cada subunidad), 22 tRNAs, varios de los componentes polipeptídicos de los complejos I, III y IV de la cadena transportadora de electrón, y partes de ATPasa F_1, F_0 (**cuadro 57-3**). El genoma mitocondrial carece de las enzimas de vigilancia y reparación que ayudan a mantener la integridad del DNA nuclear. Por tanto, las mutaciones deletéreas, introducidas en las porciones codificadas mitocondrialmente de la cadena de transporte de electrones y sus consiguientes defectos funcionales, se convierten en una característica permanente del genoma de la mitocondria al que pueden acumularse mutaciones adicionales con el tiempo. Bajo este modelo, el insulto inicial de ROS sirve como desencadenante de un ciclo autoperpetuante de fuga de ROS, daño en el DNA y aumento de la fuga de ROS.

Si bien la hipótesis mitocondrial ya no se considera una explicación unificadora de todos los cambios asociados con el envejecimiento humano y sus comorbilidades, este orgánulo sigue siendo un posible colaborador. La evidencia circunstancial fundamental de esto proviene del papel central que desempeña este orgánulo en las vías de respuesta del sensor que desencadenan la apoptosis.

Las mitocondrias son participantes clave en la apoptosis

La apoptosis imbuye a los organismos superiores con la capacidad de eliminar selectivamente las células que se vuelven superfluas por cambios desarrolladores, como los que tienen lugar continuamente durante la embriogénesis, o que han sido dañados sin posibilidad de reparación. Durante la remodelación del tejido del desarrollo, el programa de muerte celular apoptótica se desencadena por señales mediadas por receptores. En el caso de células dañadas, ROS, dsRNA viral, daños de DNA o el choque térmico pueden actuar como desencadenantes. Estas señales inducen la apertura del complejo de poros de transición de permeabilidad incrustado en la membrana externa mitocondrial, lo que permite el citocromo c, una proteína transportadora de electrones soluble pequeña (≈12.5 kDa) escapar hacia el citoplasma. Aquí, el citocromo c proporciona el núcleo alrededor del cual se fusiona el **apoptosoma**, un complejo multiproteico. El ensamblaje del apoptosoma inicia una cascada de eventos de activación proteolítica dirigidos a la proenzima que forma las caspasas, una familia de cisteína proteasas. La terminal caspasas, los números 3 y 7, descomponen las proteínas estructurales en el citoplasma y las proteínas de la cromatina en el núcleo; eventos que conducen a la muerte y, finalmente, a la fagocitosis de la célula mórbida. Muchos investigadores están trabajando para encontrar formas de explotar la presencia de esta vía intrínseca de muerte celular mediada por receptor como un medio para eliminar de manera selectiva el cáncer y otras células maliciosas.

La radiación ultravioleta puede ser extremadamente perjudicial

El término **radiación ultravioleta (UV**, *ultraviolet*) se refiere a esas ondas de longitud de la luz que se encuentran inmediatamente debajo del extremo azul del espectro visible. Si bien el ojo humano no puede detectarlas, son fuertemente absorbidas por compuestos orgánicos que poseen anillos aromáticos o enlaces dobles conjugados múltiples. Estos incluyen las bases de nucleótidos de DNA y RNA; las cadenas laterales de fenilalanina, tirosina y triptófano; ácidos grasos poliinsaturados; grupos hem; y numerosos cofactores y coenzimas que incluyen flavinas, cianocobalamina, etc. La absorción de esta luz de alta energía y longitud de onda corta pueden causar la ruptura de enlaces covalentes en proteínas, DNA y RNA; la formación de dímeros de timina en el DNA (**figura 57-4**); reticulación de proteínas; y la generación de radicales libres. Si bien la radiación UV no penetra más allá de las primeras capas de células epidérmicas, la alta eficiencia con la que se absorbe puede provocar la rápida acumulación de daño por parte de la piel. Debido a que las bases de nucleótidos de DNA y RNA son en particular eficaces en la absorción de la radiación UV, es altamente mutágenica. Por tanto, la exposición prolongada a la luz solar intensa puede conducir a la acumulación de múltiples lesiones de DNA que pueden agobiar la capacidad de reparación intrínseca de una célula, lo que lleva al desarrollo de mielomas, algunos de los cuales proliferan agresivamente si no se tratan.

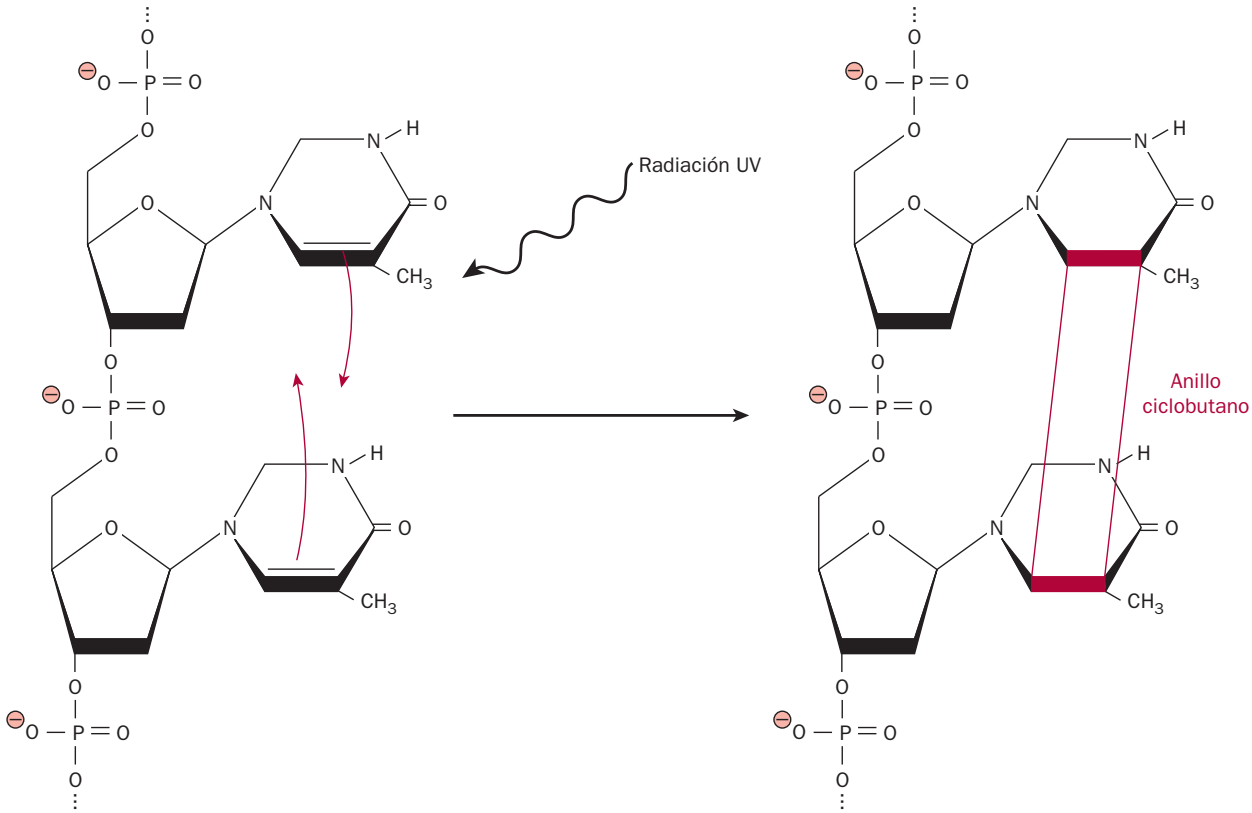


FIGURA 57-4 Formación de un dímero de timina después de la excitación por luz UV. Cuando las bases de timina consecutivas se apilan una encima de la otra en una doble hélice de DNA, la absorción de luz UV puede conducir a la formación de un anillo de ciclobutano (rojo, no a escala) que une covalentemente dos bases juntas para formar un dímero de timina.

La glicación de proteínas a menudo conduce a la formación de enlaces cruzados dañinos

Cuando los grupos amino en proteínas y nucleótidos están expuestos a un azúcar reductor como la glucosa, pueden formar un aducto mediante un proceso llamado **glicación**. El paso inicial en este proceso es la formación de una base de Schiff entre el grupo aldehído o cetona del azúcar y la amina. Con el tiempo, la macromolécula glicosilada experimenta una serie de reordenamientos para formar productos de **Amadori**, que contienen un doble enlace conjugado carbono-carbono que puede reaccionar con el grupo amino de una proteína vecina (**figura 57-5**). El resultado final es el de la formación de un enlace cruzado covalente entre dos proteínas u otras macromoléculas biológicas. Estas mismas macromoléculas pueden, a su vez, ser glicadas más allá, extendiendo la red de enlaces cruzados para incluir otras macromoléculas. Estos agregados reticulados a veces se llaman **productos finales de glicación avanzada o AGE.**

El impacto fisiológico de la glicación de proteínas puede ser especialmente pronunciado cuando las proteínas de larga vida como el colágeno o β-cristalinas están afectados. Su persistencia aumenta la oportunidad de glicación múltiple y de ocurrir subsecuentes eventos de enlaces cruzados. En las células endoteliales vasculares, la acumulación de enlaces cruzados en la red de colágeno puede conducir a la pérdida progresiva de elasticidad y engrosamiento de la membrana sótano en los vasos sanguíneos, los cuales potencian la formación de placa. El resultado final es un aumento de la carga de trabajo para el corazón. En el ojo, la acumulación de proteínas agregadas, comprometen la opacidad de la lente, eventualmente manifestándose como cataratas. Los diabéticos, cuya capacidad de controlar los niveles de glucosa en sangre está dañada, son en particular susceptibles a la formación de AGE. De hecho, la glicación de la hemoglobina y la albúmina del suero se usan como biomarcadores para el diagnóstico de la diabetes.

LOS MECANISMOS DE REPARACIÓN MOLECULAR COMBATEN EL DESGASTE NATURAL

Mecanismos enzimáticos y químicos interceptan daños ROS

Un corolario de la teoría del desgaste del envejecimiento es esa longevidad refleja de la efectividad y la solidez de los mecanismos moleculares de prevención, reparación y reemplazo. Por ejemplo, las moscas de la fruta que han sido genéticamente alteradas para expresar elevados niveles de superóxido dismutasa exhiben de manera significativa la esperanza de vida extendida.

En el citoplasma, el tripéptido glutationa que contiene cisteína actúa como un protector químico redox que reacciona de manera directa con ROS para generar compuestos menos reactivos como el agua. La glutationa oxidada, que consiste en dos tripéptidos uni-

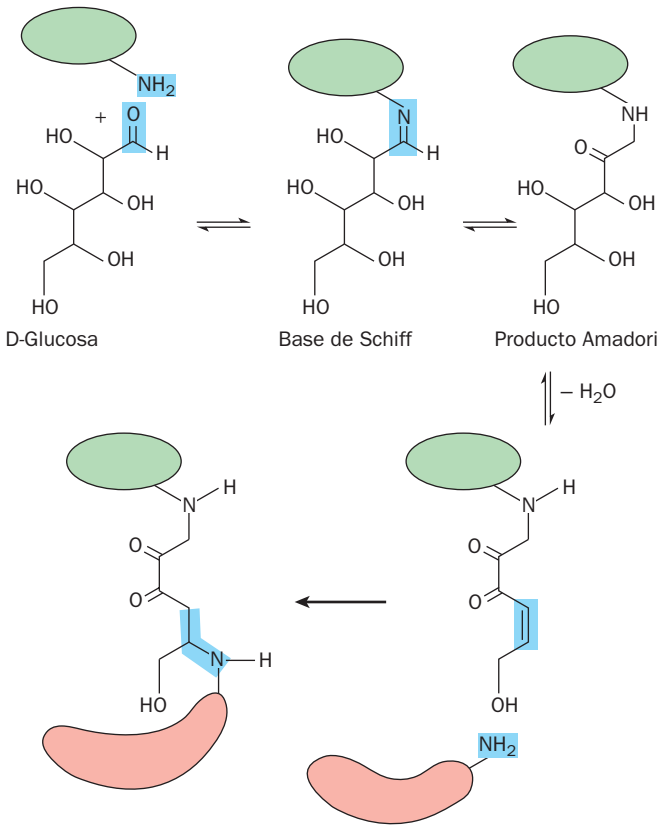


FIGURA 57-5 La glicación de proteínas puede conducir a la formación de enlaces cruzados de proteína-proteína. Se muestra la secuencia de reacciones que generan el producto Amadori en la superficie de la proteína marcado en verde, y la posterior formación de un enlace cruzado de proteína-proteína a través de un grupo amino en la superficie de una segunda, roja proteína.

dos por un enlace S-S, luego es enzimáticamente reducido para mantener el grupo de protectores (véase capítulo 53). La glutationa también puede reaccionar de manera directa con ácidos de cisteína sulfénica y disulfuros en las proteínas para restaurarlos a su estado reducido, y forma aductos con xenobióticos tóxicos (véase capítulo 47). El ácido ascórbico y la vitamina E también poseen propiedades antioxidantes, lo que explica la popularidad de dietas que enfatizan los alimentos ricos en estos compuestos, o suplementación con ellos, para combatir ROS y, con suerte, el envejecimiento lento.

La integridad del DNA se mantiene mediante mecanismos de revisión y reparación

Además de las medidas profilácticas mencionadas anteriormente, los organismos vivos poseen una capacidad limitada para reemplazar o reparar macromoléculas dañadas. El conjunto más grande de reparación de enzimas se dedica a mantener la integridad del genoma nuclear (pero no mitocondrial). Esto debe ser esperado dado el papel fundamental del DNA en la herencia, su vulnerabilidad para ataque químico y radiación UV, y el hecho que –en contraste con casi cualquier otra macromolécula– cada célula humana contiene sólo una o dos copias de cada cromosoma.

El mantenimiento de la integridad del genoma comienza en la replicación, donde se realiza una corrección cuidadosa para garantizar que el nuevo genoma formado durante la división celular **somática** reproduzca fielmente la plantilla que dirigió su síntesis. El término somático se refiere a las células diferenciadas que componen el cuerpo de un organismo. Además, la mayoría de los organismos vivos poseen un impresionante cuadro de enzimas cuyo papel es inspeccionar y corregir las aberraciones que escaparon de la corrección replicativa o fueron generados con posterioridad a través de la acción del agua (roturas de doble cadena, depuración y desamidación de citosina), radiación UV (dímeros de timina y rotura de cadena), o la exposición a modificadores químicos (formación de aducto). Este sistema de capas múltiples se compone de enzimas de reparación de desequilibrio, enzimas de reparación de escisión de nucleótidos y enzimas de reparación de escisión de base, así como el sistema Ku para reparar roturas de doble cadena en la cadena principal del fosfodiéster (véase capítulo 35). Como último recurso, las células que albergan mutaciones dañinas están sujetas a eliminación por apoptosis.

A pesar de las muchas precauciones tomadas para identificar y corregir errores, algunas mutaciones inevitablemente se deslizan. En efecto, una frecuencia baja, pero finita, de mutación es necesaria para generar la variabilidad genética que fomenta la evolución. **La teoría de la mutación somática del envejecimiento** propone que estas mutaciones también sirven como un impulsor del proceso de envejecimiento. Simplemente poner, la acumulación de células somáticas mutadas inevitablemente debe conducir a una función biológica comprometida que se manifiesta en sí, al menos en parte, como los cambios físicos que asociamos con el envejecimiento.

Algunos tipos de daños a las proteínas pueden ser reparados

En contraste con el DNA, la capacidad de una célula para reparar el daño a otras biomoléculas son relativamente limitadas. En la mayor parte, las células parecen depender del cambio de rutina, la población de una biomolécula dada se degrada y reemplaza mediante una nueva síntesis sobre una base continua o constitutiva (véase capítulo 9) para eliminar lípidos dañados, carbohidratos y proteínas. Sin embargo algunas proteínas, en particular la proteína fibrosa, que se encuentran en los tendones, ligamentos, huesos, matriz, etc., sufren poco, si hay algún, cambio. Estas proteínas de larga vida tienden a acumular daños a través de los años, lo que contribuye a la pérdida de elasticidad en los tejidos y articulaciones vasculares, pérdida de opacidad de la lente, etc. Los mecanismos más prominentes para reparar las proteínas dañadas se dirigen a los átomos de azufre de la cadena lateral oxidada de cisteína y metionina, y los grupos isoaspartilo se forman cuando un enlace peptídico cambia de un α a un grupo carboxilo de cadena lateral.

El grupo sulfhidrilo de cadena lateral de cisteína con frecuencia desempeña papeles catalíticos, reguladores y estructurales importantes (p. ej., disulfuros de cisteína, centros Fe-S) en proteínas. Sin embargo ambos, el grupo sulfhidrilo de cisteína y el éter de azufre de metionina son extremadamente vulnerables a la oxidación (figura 57-3C). Los disulfuros de cisteína, ácidos sulfénicos de cisteína y sulfóxido de metionina se pueden reducir con disulfuro reductasas y metionina sulfóxido reductasas, todas las cuales usan nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)* como electrón donante, o reacción directa con glutatión reducido. Desafortunadamente, los potenciales de reducción de glutatión y NADPH son sólo suficiente para

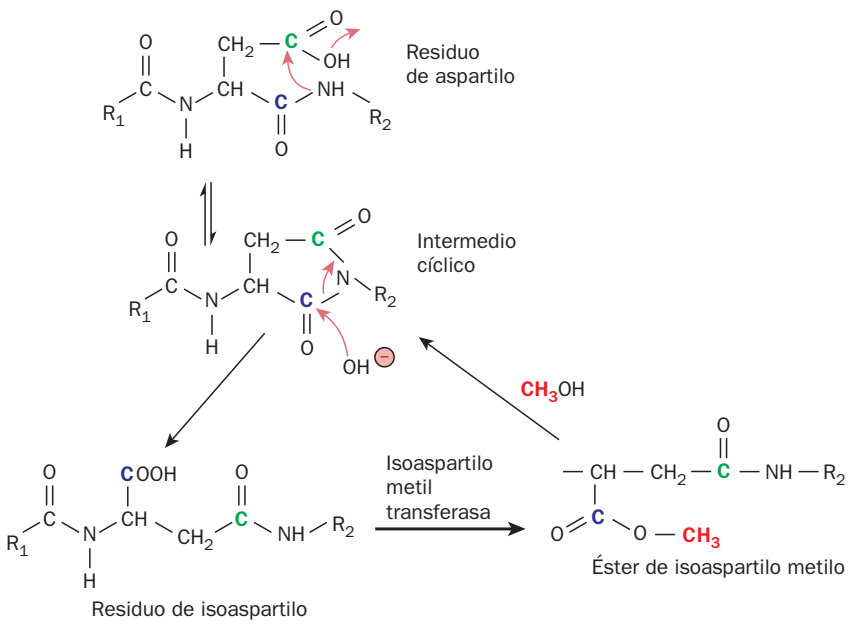


FIGURA 57-6 Formación de un enlace de isoaspartilo en una cadena principal de polipéptido y su reparación mediante la intervención de isoaspartilo metiltransferasa. Se muestra la secuencia de reacciones químicas y catalizadas por enzimas que conducen a la formación de un enlace de isoaspartilo y restauración de un enlace peptídico normal. Los carbonos correspondientes a los grupos de ácido carboxílico α y lateral en ácido aspártico se colorean azul y verde, respectivamente. Las flechas rojas indican las rutas de ataque nucleofílico durante la ciclación y las reacciones de hidrólisis. El grupo metilo agregado por isoaspartilo metiltransferasa es de color rojo.

reducir los estados de oxidación más bajos de estos átomos de azufre: disulfuros de cisteína o ácidos sulfénicos y metionina sulfóxido. El ácido sulfínico de cisteína, el ácido sulfónico de cisteína, y la metionina sulfona son refractarios a la reducción por medios bioquímicos disponibles.

El ácido aspártico posee la geometría precisa necesaria para llevar su grupo carboxilo de cadena lateral muy cerca del enlace peptídico que implica su grupo α-carboxilo. El nitrógeno de amida puede reaccionar con él para generar una diamida cíclica. Este intermedio puede reabrir para formar el enlace peptídico original o un residuo de isoaspartilo en el que el carboxilo de la cadena lateral ahora forma parte de la estructura peptídica de la proteína **(figura 57-6).** La metilación catalizada del isoaspartilo metiltransferasa de α-carboxilo introduce un grupo saliente que potencia la reformación de la diamida cíclica, que luego puede volver a abrir para formar el enlace de enlace peptídico normal (figura 57-6).

Las proteínas agregadas son altamente refractarias a la degradación o reparación

Las modificaciones a la composición o conformación de una proteína que se adhiera a otras moléculas de proteína pueden conducir a la formación de agregados tóxicos, llamados **amiloide**. Tales agregados son un sello distintivo de varias enfermedades neurodegenerativas, incluyendo Parkinson, Alzheimer, enfermedad de Huntington, ataxias espinocerebelosa y la encefalopatía espongiforme transmisible. Los efectos tóxicos de estos agregados insolubles son exacerbados por su persistencia, ya que por lo general son refractarios a la degradación por las proteasas normalmente responsables del cambio proteico.

EL ENVEJECIMIENTO COMO PROCESO PREPROGRAMADO

Aunque el desgaste molecular indudablemente contribuye al envejecimiento, varias observaciones sugieren un papel prominente para mecanismos programados y deterministas. La menopausia femenina, por ejemplo, proporciona un ejemplo inequívoco de un cambio fisiológico asociado que está genéticamente programado y controlado de manera hormonal. Los párrafos a continuación describen varias teorías actuales con respecto a mecanismos deterministas, programados para controlar el envejecimiento y la muerte.

Teorías metabólicas del envejecimiento: "Mientras más brilla el caramelo, más rápido se quema"

Una de las muchas variantes de la famosa cita atribuida al antiguo filósofo chino Lao Tzu resume las características sobresalientes de **las teorías metabólicas del envejecimiento**. Sus orígenes se pueden rastrear a la observación de que los miembros más grandes del reino animal tienden a vivir más tiempo que los más pequeños (**cuadro 57-4**). Razonando que la base causal de esta correlación derivada de algo relacionado con el tamaño, más que el tamaño en sí, los científicos centraron su atención en el órgano más frecuentemente asociado con la vida y la vitalidad: el corazón. En general, la frecuencia cardiaca en reposo de animales pequeños como colibríes, 250 latidos por minuto, tiende a ser más alto que aquellos de animales grandes como las ballenas, de 10 a 30 latidos por minuto.

CUADRO 57-4 Esperanza de vida *versus* masa corporal para varios mamíferos

Especies	Masa aproximada (kg)	Esperanza de vida promedio en la edad adulta (años)
Ratón de patas blancas	0.02	0.28
Ciervo ratón	0.02	0.43
Roedor Myodes glareolus	0.025	0.48
Ardilla oriental	0.1	1.63
Pica americana	0.13	2.33
Ardilla del género manto dorado	0.155	2.12
Ardilla roja	0.189	2.45
Ardilla de tierra de Belding	0.25	1.78
Ardilla de tierra Uinta	0.35	1.72
Ardilla gris oriental	0.6	2.17
Ardilla de tierra ártica	0.7	1.71
Conejo del este	1.25	1.48
Mofeta rayada	2.25	1.90
Tejón americano	7.15	2.33
Nutria del río americano del Norte	7.2	3.79
Gato montés	7.5	2.48
Castor norteamericano	18	1.52
Impala	44	4.80
Borrego cimarrón	55	5.48
Jabalí	85	1.91
Jabalí verrugoso	87	2.82
Tahr del Nilgiri	100	4.71
Ñu azul	165	4.79
Ciervo rojo	175	4.90
Venado acuático	200	5.87
La Cebra de Burchell	270	7.95
Búfalo africano	490	4.82
Hipopótamo	2 390	16.40
Elefante africano	4 000	19.10

Fuente: Adaptado de Millar JS, Zammuto. Life histories of mammals: an analysis of life tables. *Ecology* 1983;64:631.

Las estimaciones del número total de latidos del corazón de animales vertebrados en el curso de una vida exhibieron una increíble convergencia en 1×10^9.

¿Es el corazón de los vertebrados física o genéticamente limitado a mil millones de latidos? Una variación más matizada de **la hipótesis del latido de corazón** fue presentada por Raymond Pearl en la década de 1920. **La hipótesis metabólica** o **de la tasa de vida** de Pearl posicionó que la esperanza de vida de un individuo estaba vinculada recíprocamente a su tasa de base metabólica. Se calculó que cada animal vertebrado gasta una cantidad similar de energía metabólica total *por unidad de masa corporal*, 7×10^5 J/g, durante su vida. Aunque intuitivamente atractivo, la identificación de un vínculo mecanicista entre la esperanza de vida y la tasa metabólica o el gasto energético ha sido difícil de alcanzar. Los adherentes de la teoría mitocondrial del envejecimiento sugieren que lo que se está "contando" no son latidos del corazón o energía, sino los ROS que son el subproducto de la respiración. Con el tiempo, la generación continua de energía y el consumo relacionado de O_2 conduce a la acumulación del daño inducido por ROS al DNA, proteínas y lípidos hasta que finalmente, se alcanza un punto de inflexión universalmente conservado. Las células que experimentan déficit calórico ajustan (reprograman) sus vías metabólicas para utilizar los recursos disponibles de una manera más eficiente que concomitantemente disminuye el rendimiento de ROS colateral.

¿Telómeros: una cuenta regresiva molecular?

Una segunda escuela de pensamiento sostiene que la putativa cuenta regresiva que controla el envejecimiento y la esperanza de vida no controla los latidos del corazón, energía o ROS. Por el contrario, utiliza los **telómeros** para rastrear el número de veces que cada célula somática se divide.

A diferencia del DNA circular cerrado de genomas bacterianos, el DNA genómico de eucariotas es lineal. Si se deja sin procesar, los extremos expuestos de estos polinucleótidos lineales estarían disponibles para participar en eventos de recombinación genética potencialmente deletéreas. Los telómeros tapan los extremos de cromosomas eucariotas con algunos cientos de repeticiones de hexanucleótidos ricos en GT. Estas tapas también proporcionan una fuente de DNA dispensable para acomodar el desperdicio que ocurre cuando los cromosomas lineales se replican.

Este desperdicio es una consecuencia del hecho de que todas las polimerasas DNA funcionan unidireccionalmente, de 3 'a 5' (véase capítulo 35). Al replicar DNA de doble cadena lineal mediante la síntesis discontinua de 3 'a 5', el extremo 5' de cada nueva cadena por lo general comenzará ≥100 bp menos que el extremo 5' final de la cadena de la plantilla. En consecuencia, cada vez que la célula replica su genoma para dividir, sus cromosomas se vuelven más cortos (**figura 57-7**). Los telómeros proporcionan una fuente inocua de DNA cuya pérdida gradual es de poca consecuencia inmediata para la célula. Sin embargo, una vez que se agote el suministro de DNA de los telómeros, aproximadamente 100 divisiones celulares para los humanos, la mitosis cesará, causando que la célula somática entre en un estado de **senescencia replicativa**. Por tanto, como nuestros cuerpos envejecen, pierden progresivamente la capacidad de reemplazar células perdidas o dañadas.

Los organismos pueden generar progenie que contengan telómeros de longitud completa a través de la intervención del enzima **telomerasa**. La telomerasa es una ribonucleoproteína que se expresa en células madre y en la mayoría de las células cancerosas, pero no en células somáticas. Usando una plantilla de RNA, la telomerasa agrega secuencias de repetición de hexanucleótidos ricos en GT a los extremos de moléculas lineales de DNA que restablecen sus telómeros para completar longitud. En el laboratorio, la operación del reloj de los telómeros propuestos ha sido demostrada por células somáticas genéticamente modificadas para expresar telomerasa. Según lo predicho por la hipótesis del reloj de los telómeros, las células modificadas continuaban para dividir en cultivo mucho después de que las células de control de tipo salvaje entraran en la senescencia replicativa.

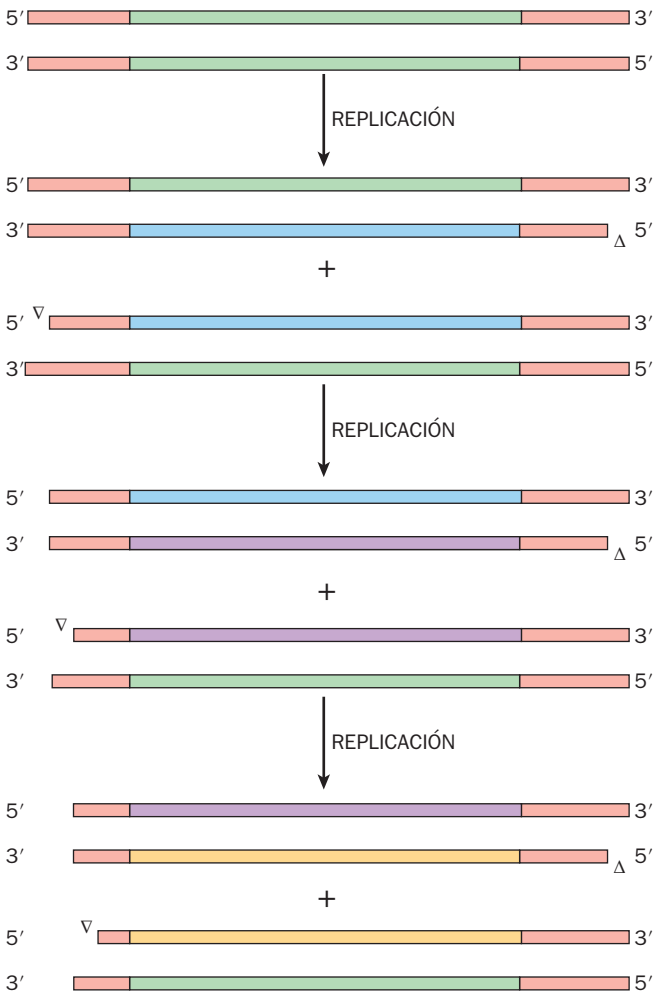


FIGURA 57-7 Los telómeros en los extremos de los cromosomas eucarióticos se acortan de manera progresiva con cada ciclo de replicación. Se muestra un diagrama esquemático del DNA lineal de un cromosoma eucariótico (verde) que contiene telómeros en cada extremo (rojo). Durante la primera replicación, se sintetizan nuevas cadenas de DNA (verde) usando el cromosoma original como plantilla. Por simplicidad, los dos ciclos siguientes de replicación (violeta, amarillo) muestran el destino de sólo el más bajo de los dos productos de nucleótidos del anterior ciclo replicativo. Las puntas de flecha abiertas denotan el sitio de síntesis de cadena incompleta. El modelo supone que la cadena simple se cuelga en los extremos de cada cromosoma y se recortan para completar cada ciclo de división celular. Tenga en cuenta que el acortamiento progresivo de los telómeros se repite.

Kenyon usó un organismo modelo para descubrir los primeros genes en envejecimiento

Muchos avances en la ciencia biomédica son el producto de la investigación que utiliza una variedad de los llamados organismos modelo como sus sujetos de prueba. La mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, ha producido una rica recopilación de información sobre los genes que guían la diferenciación celular y el desarrollo de órganos. La levadura de panadero y la rana con garras africana, *Xenopus laevis*, han servido como caballos de batalla para diseccionar los circuitos de transducción de señales que organizan el ciclo de división celular. Una variedad de líneas celulares cultivadas de mamíferos sirven como sustitutos de adipocitos, células renales, tumores, dendritas, etc. Aunque a primera vista parece que muchos de estos sistemas modelos comparten poco en común con los humanos, cada uno posee atributos únicos que los hacen vehículos convenientes para abordar problemas particulares o explorar procesos celulares o moleculares específicos.

El *Caenorhabditis elegans* es un gusano que ha servido como tema importante para el estudio de la biología del desarrollo. El *C.elegans* es transparente y crece de manera muy rápida, lo que permite el programa de desarrollo que genera todas las 959 células en un adulto para determinar el huevo fertilizado. A principios de la década de 1990, Cynthia Kenyon y sus colegas observaron que los gusanos que llevan mutaciones del gen que codifica una molécula tipo receptor de insulina, *daf-2*, vivió 70% más que sus homólogos de tipo salvaje. De igual importancia, los gusanos mutantes se comportaron de una manera similar a la de *C. elegans* silvestres jóvenes durante gran parte de este periodo. Esto es una distinción importante, como un "gen de envejecimiento" *de buena fe*, debe hacer más que simplemente prolongar la existencia. Debe retrasar uno o más de los cambios fisiológicos asociados con el envejecimiento.

La investigación de otros genes de envejecimiento indica que codifican para cualquiera de un pequeño conjunto de factores de transcripción que incluyen PHA-4 o DAF-16, que presumiblemente controlan la expresión de genes críticos de envejecimiento, o proteínas de señalización como DAF-2 que probablemente activan PHA-4, DAF-16, etc., en respuesta a señales ambientales específicas. Queda mucho por aprender sobre la medida en que el envejecimiento es controlado por eventos genéticamente programados, y cómo estos genes y sus productos interactúan con factores nutricionales y de otro tipo que influyen en la vitalidad y longevidad.

¿POR QUÉ SE SELECCIONARÍA LA EVOLUCIÓN PARA ESPERANZA DE VIDAS LIMITADAS?

La idea de que los animales habrían desarrollado mecanismos diseñados específicamente para limitar su esperanza de vida aparecería, a primera vista, ser contradictorio. Si la fuerza impulsora detrás de la evolución es la selección de rasgos que mejoran la aptitud y supervivencia, ¿no debería traducirse en una expectativa de vida en constante aumento? Sin embargo, si bien la prolongación de la esperanza de vida puede representar un rasgo deseable desde el punto de vista del individuo, no necesariamente se deduce que esto se aplica a una población o especie como un todo. Un límite genéticamente programado en la esperanza de vida podría beneficiar al grupo al eliminar el agotamiento de los recursos disponibles impuestos por los miembros que ya no participan de manera activa en la producción, desarrollo y entrenamiento de la descendencia. De hecho, la esperanza de vida actual de tres generaciones puede ser racional como un tiempo a) para que los recién nacidos se conviertan en adultos jóvenes activos de manera reproductiva, b) para que estos jóvenes adultos puedan producir y nutrir a su descendencia, y c) para que los adultos mayores sirvan como una fuente de orientación y asistencia para adultos jóvenes frente a los desafíos del parto y la crianza de los hijos.

RESUMEN

- El envejecimiento y la longevidad se controlan a través de la compleja interacción entre factores aleatorios y deterministas que incluyen programación genética, tensiones ambientales, estilo de vida, cuenta regresiva celular y procesos de reparación molecular.
- Las teorías del desgaste representan la hipótesis de que el envejecimiento resulta de la acumulación de daños a lo largo del tiempo.
- El agua, el oxígeno y la luz son esenciales para la vida, pero poseen una capacidad intrínseca para dañar las macromoléculas biológicas.
- ROS se generan continuamente como un subproducto del metabolismo, en particular la cadena de transporte de electrones.
- Los efectos nocivos de ROS a menudo se amplifican por reacciones en cadena de radicales libres.
- La reactividad de sus sistemas de anillos insaturados y su capacidad para absorber la luz UV rinden las bases de nucleótidos del DNA en particular vulnerable a los rayos UV o al daño químico.
- Mutaciones resultantes de errores causados por falta o bases de nucleótidos dañados pueden ser particularmente dañinas, y pueden resultar en transformación oncogénica.
- Sus roles críticos en la producción de energía y la apoptosis, junto con su genoma indígena, hacen de las mitocondrias un jugador central en muchas teorías del envejecimiento y la muerte.
- Largas secuencias repetitivas llamadas telómeros tapa los extremos de los cromosomas lineales en eucariotas.
- Debido a que los telómeros se acortan de manera progresiva con cada división de una célula somática, se supone que sirven como una cuenta regresiva.
- Los organismos modelo proporcionan vehículos útiles para investigar procesos biológicos.
- La mutación del gen *daf-2* en *C. elegans* extiende la vida útil de gusanos en 70%.
- La selección evolutiva de una esperanza de vida limitada puede optimizar la vitalidad de la población en lugar de la de sus miembros individuales.

REFERENCIAS

Arias E, Curtin LR, Wei R, *et al.* U.S. decennial life tables for 1999–2001, United States life tables. *Natl Vital Stat Rep*2008;57:1.

Baraibar MA, Friguet B. Oxidative proteome modifications target specific cellular pathways during oxidative stress, cellular senescence and aging. *Exp Gerontol*2013;48:620.

Bitto A, Wang AM, Bennett CF, Kaeberlein M. Biochemical genetic pathways that modulate aging in multiple species. *Cold Spring Harb Perspect Med*2015;5.

MacNeil DE, Benoussan HJ, Autexier C. Telomerase regulation from beginning to the end. *Genes (Basel)*2016;7:64.

Speakman JR. Body size, energy metabolism and lifespan. *J Exp Biol*2005;208:1717.

Wang Y, Hekimi S. Mitochondrial dysfunction and longevity in animals: untangling the knot. *Science*2015;350:1204.

CAPÍTULO

58

Historias de casos bioquímicos

David A Bender, PhD

OBJETIVOS:

Después de estudiar este capítulo, usted deberá ser capaz de:

- Usar su conocimiento para explicar los defectos bioquímicos subyacentes en las enfermedades.

INTRODUCCIÓN

En este último capítulo se presentan nueve historias de casos como problemas abiertos para que los resuelva, sobre la base de lo que aprendió al estudiar este libro. No se proporcionan soluciones, y no hay discusión de los casos; todo lo que necesita saber para explicar los problemas está disponible en otra parte de este libro.

En muchos casos, los resultados de la química clínica del paciente se presentan junto con los rangos de referencia. Estos pueden diferir de un problema a otro porque, como se discutió en el capítulo 48, los rangos de referencia de diferentes laboratorios pueden diferir.

CASO 1

El paciente es un niño de 5 años, que nació en 1967, a término, después de un embarazo sin complicaciones. Era un bebé enfermizo y no creció bien. En varias ocasiones su madre notó que parecía soñoliento, o incluso comatoso, y dijo que había un olor "químico, parecido al alcohol" en su aliento y en su orina. El médico de cabecera sospechó diabetes mellitus y lo envió al Hospital Middlesex en Londres para una prueba de tolerancia a la glucosa. Los resultados se muestran en la **figura 58-1**.

También se tomaron muestras de sangre para medir la insulina en tiempo cero y 1 hora después de la carga de glucosa. En este momento, se estaba desarrollando un nuevo método para medir la insulina, el radioinmunoensayo (véase capítulo 48) y, por tanto, se usaron tanto este como el ensayo biológico convencional. El método biológico para medir la insulina es su capacidad para estimular la captación y el metabolismo de la glucosa en el músculo de la rata *in vitro*; esto se puede realizar de forma relativamente simple midiendo la radioactividad en $^{14}CO_2$ después de incubar muestras duplicadas del músculo con glucosa [^{14}C], con y sin la muestra que contiene insulina. Los resultados se muestran en el **cuadro 58-1**.

Como parte de sus estudios del nuevo radioinmunoensayo de insulina, el equipo del Hospital Middlesex realizó una cromatografía de gel de exclusión de una muestra combinada de suero normal y determinó la insulina en las fracciones extraídas de las columnas tanto por radioinmunoensayo (gráfico A en **figura 58-2**) y mediante estimulación de la oxidación de la glucosa (gráfico B). Se usaron tres marcadores de masa molecular; eluyeron de la siguiente manera: M_r 9 000 en la fracción 10, M_r 6 000 en la fracción 23, y M_r 4 500 en la fracción 27.

Los investigadores también midieron la insulina en las fracciones eluidas de la columna de cromatografía después del tratamiento de cada fracción con tripsina. Los resultados se muestran en el gráfico C.

Después de ver los resultados de estos estudios, sometieron la muestra de suero del mismo grupo para un tratamiento breve con tripsina y realizaron una cromatografía de exclusión de gel en el producto. De nuevo, midieron la insulina por radioinmunoensayo (gráfico D) y el ensayo biológico (gráfico E).

Desde estos estudios en la década de 1960, el gen de la insulina humana ha sido clonado. Aunque la insulina consiste en dos cade-

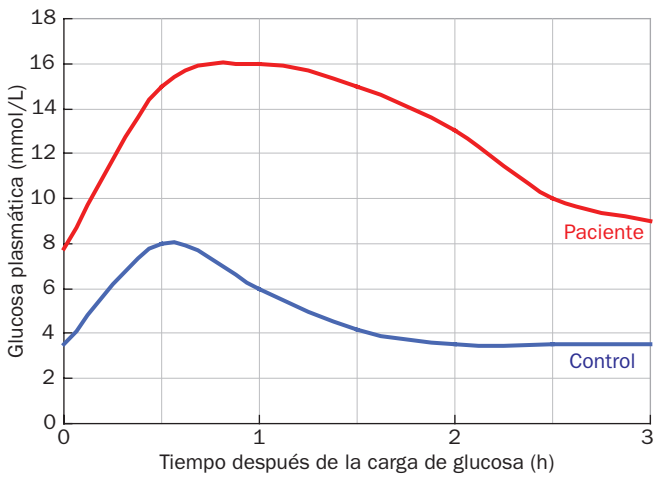


FIGURA 58-1 **Glucosa plasmática en el paciente y un sujeto de control después de una dosis de prueba de glucosa.**

CUADRO 58-1 **Insulina sérica (mU/L) medida mediante ensayo biológico y radioinmunoanálisis**

	Línea de base (ayuno). Muestra de sangre		1 hora después de la carga de glucosa	
	Paciente (Caso 1)	Sujetos de control	Paciente (Caso 1)	Sujetos de control
Ensayo biológico	0.8	6 ± 2	5	40 ± 11
Radioinmunoensayo	10	6 ± 2	50	40 ± 11

nas peptídicas, 21 y 30 aminoácidos de longitud, respectivamente, estas están codificadas por un único gen, que tiene un total de 330 pares de bases entre el iniciador y los codones de parada. Como cabría esperar para una proteína secretada, existe una secuencia señal que codifica 24 aminoácidos en el extremo 5' del gen.

¿Qué sugiere esta información sobre los procesos que ocurren en la síntesis de insulina?

¿Cuál es probablemente la base bioquímica subyacente del problema del paciente?

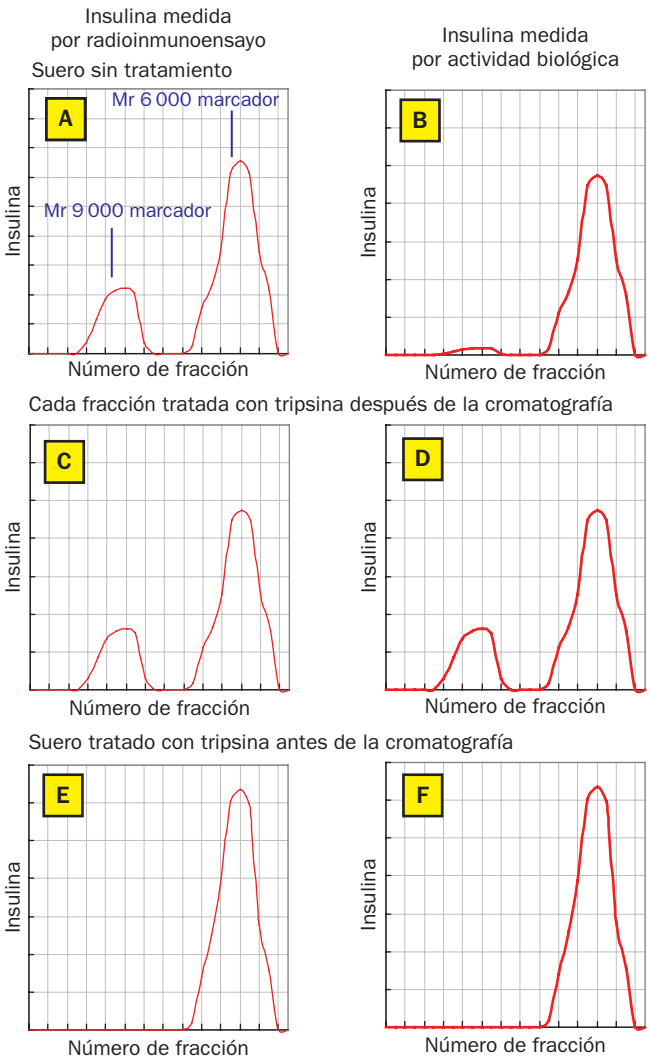


FIGURA 58-2 **Insulina medida por radioinmunoensayo y ensayo biológico antes y después del tratamiento de las muestras de plasma con tripsina.**

CASO 2

El paciente es un hombre de 50 años, de 174 cm de estatura y un peso de 105 kg. Es ingeniero y trabaja en comisión de servicio en uno de los estados islámicos más estrictos del Golfo Arábigo Pérsico, donde el alcohol está prohibido. A principios de agosto, regresó a casa para su permiso anual. Según su familia, se comportó como solía hacerlo cuando estaba de licencia, consumiendo una gran cantidad de alcohol y rechazando las comidas. Se sabía que bebía 2 L de whisky, dos o tres botellas de vino y una docena o más de latas de cerveza al día; su única comida sólida consistía en dulces y galletas.

El 1 de septiembre fue ingresado en el servicio de urgencias, semiconsciente y con una velocidad de respiración rápida (40/minuto). Su presión arterial era de 90/60 y su pulso era de 136/minuto. Su temperatura era normal (37.1°C). El análisis de gas en sangre de emergencia reveló acidosis severa: pH 7.02 y exceso de base –23; la Po_2 91 mmHg y la Pco_2 10 mmHg. Fue trasladado a cuidados intensivos y se le administró bicarbonato por vía intravenosa.

Su pulso se mantuvo alto y su presión arterial baja, por lo que se realizó un cateterismo cardiaco de emergencia; esto reveló un gasto cardiaco de 23 L/min (normal 4-6). Una radiografía de tórax muestra un aumento cardiaco significativo.

El **cuadro 58-2** muestra los resultados de la química clínica de una muestra de plasma tomada poco después de ser ingresado.

¿Cuál es la probable base bioquímica del problema del paciente, que condujo a su hospitalización de emergencia?

¿Qué pruebas adicionales podría solicitar para confirmar su suposición?

¿Qué tratamiento de emergencia sugeriría?

CUADRO 58-2 **Resultados de la química clínica para el paciente del caso 2 en el ingreso. Todos los valores son mmol/L**

	Paciente en el caso 2	Rango de referencia
Glucosa	10.6	3.5-5
Sodio	142	131-151
Potasio	3.9	3.4-5.2
Cloruro	91	100-110
Bicarbonato	5	21-29
Lactato	18.9	0.9-2.7
Piruvato	2.5	0.1-0.2

CUADRO 58-3 Efecto de la incubación con 330 µmol/L de acetilfenilhidrazina en el eritrocito glutatión

	Paciente en el caso 3		Sujetos de control	
	GSH (mmol/L)	GSSG (µmol/L)	GSH (mmol/L)	GSSG (µmol/L)
Inicial	1.61	400	2.01 ± 0.29	4.2 ± 0.61
+ Acetilfenil-hidrazina	0.28	1 540	1.82 ± 0.24	190 ± 28

CASO 3

El paciente es un recluta afroamericano para el ejército. Le dieron el fármaco antipalúdico primaquina, y sufrió una reacción tardía con dolor renal, orina oscura y recuentos bajos de glóbulos rojos que condujeron a anemia y debilidad. La centrifugación de una muestra de sangre mostró un bajo hematocrito, y el plasma era de color rojo.

Se han observado ataques hemolíticos agudos similares, predominantemente en hombres de origen afrocaribeño, en respuesta a la primaquina y una variedad de otros fármacos, incluida la dapsona, la acetilfenilhidrazina antipirética, el bactrim/septrin antibacteriano, las sulfonamidas y las sulfonas, cuya única característica común es que todos experimentan reacciones cíclicas no enzimáticas en presencia de oxígeno para producir peróxido de hidrógeno y una variedad de radicales de oxígeno que pueden causar daño oxidativo a los lípidos de la membrana, lo que lleva a la hemólisis. La infección moderadamente grave también puede precipitar una crisis hemolítica en las personas susceptibles.

Una forma de seleccionar la sensibilidad a la primaquina se basa en la observación de que la concentración de glutatión de los eritrocitos de sujetos sensibles es algo menor que la de los sujetos de control y disminuye considerablemente con la incubación con acetilfenilhidrazina.

El glutatión (GSH, *glutathione*) es un tripéptido, γ-glutamil-cisteinil-glicina, que experimenta fácilmente oxidación para formar un hexapéptido unido a disulfuro, glutatión oxidado, generalmente abreviado como GSSG. El **cuadro 58-3** muestra las concentraciones de GSH y GSSG en los glóbulos rojos del paciente y 10 sujetos de control, antes y después de la incubación con acetilfenilhidrazina.

¿Cuánto GSH se oxida por mol de acetilfenilhidrazina agregada?

La K_m de glutatión reductasa reportada para GSSG es de 65 µmol/L y para el NADPH es de 8.5 µmol/L. Los lisados de eritrocitos se incubaron con una concentración saturante de GSSG (1 mmol/L) y NADPH o NADH (100 µmol/L). Cada incubación contenía el hemolizado de 0.5 mL de las células empaquetadas (**cuadro 58-4**).

CUADRO 58-4 Glutatión reductasa, µmol producto formado/min

	Paciente en el caso 3	Sujetos de control
NADPH	0.64	0.63 ± 0.06
NADH	0.01	0.01 ± 0.001

Dado que ninguno de los lisados de glóbulos rojos mostró actividad significativa con NADH, es poco probable que exista actividad transhidrogenasa en los eritrocitos para reducir $NADP^+$ a NADPH a expensas de NADH. Esto plantea el problema de la fuente de NADPH en los eritrocitos.

El colorante azul de metileno oxidará NADPH; el colorante reducido luego experimenta oxidación no enzimática en el aire, por lo que la adición de una cantidad relativamente pequeña de azul de metileno agotará efectivamente NADPH, y se esperaría que estimulara cualquier ruta que reduzca $NADP^+$ a NADPH.

Los eritrocitos de los sujetos de control se incubaron con glucosa 10 mmol/L [^{14}C] con o sin la adición de azul de metileno; se usaron los seis posibles isómeros posicionales de glucosa [^{14}C] y se determinó la radioactividad en (lactato + piruvato) después de la cromatografía en capa fina de la mezcla de incubación. Cada incubación contenía 1 mL de eritrocitos en un volumen total de incubación de 2 mL (**cuadro 58-5**).

En estudios posteriores, sólo se midió la formación de $^{14}CO_2$ a partir de glucosa [^{14}C-1], con la adición de:

- Ascorbato sódico (que se somete a una reacción no enzimática en el aire para producir H_2O_2)
- Acetilfenilhidrazina (que se sabe que precipita la hemólisis en sujetos sensibles y reduce el glutatión reducido)
- Azul de metileno (que oxida el NADPH)

Las incubaciones se repitieron con *N*-etilmaleimida, que se somete a una reacción no enzimática con el grupo -SH de glutatión reducido, y así agota la célula de glutatión total. Los resultados se muestran en el **cuadro 58-6**.

Otros estudios demostraron que los glóbulos rojos del paciente contenían sólo cerca de 20% de la actividad normal de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (véase capítulo 20). Para investigar por qué su actividad enzimática era tan baja, se incubó una muestra de sus glóbulos rojos a 45 °C durante 60 minutos, luego se enfrió a 30 °C y se determinó la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Después de la preincubación a 45 °C, sus glóbulos rojos mostraron sólo 60% de su actividad inicial. Por el contrario, los glóbulos rojos de los sujetos de control retuvieron 90% de su actividad inicial después de la preincubación a 45°C durante 60 minutos.

¿Qué conclusiones puede sacar de estos resultados?

CASO 4

El paciente es un niño maltés de 10 años. En su cumpleaños, su tía le regaló un pastel hecho de habas (un manjar local), y esa noche sufrió un dolor en los riñones y tuvo una orina oscura. Una película de sangre mostró un bajo conteo de glóbulos rojos y el plasma era de color rojo. Este problema no es raro en Malta, de hecho varios de sus compañeros de clase (todos varones) han muerto a cau-

CUADRO 58-5 Producción de [^{14}C]lactato, piruvato y CO_2 en 1 mL de eritrocitos procedentes de sujetos de control incubados durante 1 hora con 10 mmol/L de [^{14}C]glucosa a 10 µCi/mmol

	Control		+ Azul de metileno	
	Lactato + piruvato	CO_2	Lactato + piruvato	CO_2
[^{14}C-1]glucosa	12 680 ± 110	1 410 ± 15	1 830 ± 20	12 260 ± 130
[^{14}C-2]glucosa	14 080 ± 120	ND	14 120 ± 120	ND
[^{14}C-3]glucosa	14 100 ± 120	ND	14 090 ± 120	ND
[^{14}C-4]glucosa	14 060 ± 120	ND	14 080 ± 120	ND
[^{14}C-5]glucosa	14 120 ± 120	ND	14 060 ± 120	ND
[^{14}C-6]glucosa	14 090 ± 110	ND	14 100 ± 120	ND

Abreviatura: ND (not detectable): no detectable, es decir, por debajo de los límites de detección.
Las figuras muestran dpm, media ± desviación estándar para 5 incubaciones repetidas.

sa de una crisis aguda al comer habas o después de una fiebre moderada asociada a una infección.

Otros estudios demostraron que su glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de los eritrocitos era sólo 10% de lo normal y tenía un K_m muy alto para $NADP^+$. A diferencia del paciente en el caso 3, su enzima de glóbulos rojos era tan estable a la incubación a 45 °C como la de los sujetos de control.

¿Qué conclusiones puede sacar de estos resultados?

CASO 5

La paciente es una niña de 28 semanas de edad. Fue ingresada en coma en el servicio de urgencias después de haber sufrido una convulsión luego de alimentarse. Tenía una infección ligera y fiebre leve en ese momento. Desde su nacimiento, era una niña enferma y con frecuencia vomitaba y se quedaba dormida después de alimentarse. Fue alimentada con biberón y, en algún momento, se sospechó de alergia a la leche de vaca. Sin embargo, los problemas persistieron cuando fue alimentada con leche de soja.

Al ingresar, tenía hipoglucemia leve, cetósica y su pH plasmático era de 7.29. El análisis de una muestra de sangre mostró niveles normales de insulina, pero una hiperamonemia considerable (concentración plasmática de ion amonio de 500 µmol/L, rango de referencia de 40-80 µmol/L). Respondió bien a la infusión intravenosa de glucosa y a la infusión rectal de lactulosa, recuperando la conciencia. Ella tenía un tono muscular pobre.

Se tomó una muestra de biopsia hepática y se determinaron las actividades de las enzimas de la síntesis de la urea (véase capítulo 28) y se compararon con las actividades en muestras de hígado *postmortem* de seis niños de la misma edad. Los resultados se muestran en el **cuadro 58-7**. Se mantuvo con una dieta rica en carbohidratos y baja en proteínas durante varios días, aunque persistió el pobre tono muscular y la debilidad muscular. Se tomó una segunda muestra de biopsia hepática después de 4 días y se determinó nuevamente la actividad de las enzimas.

Su dieta muy baja en proteínas continuó, pero para asegurar un suministro adecuado de los aminoácidos esenciales para el crecimiento se le alimentó con una mezcla de los cetoácidos de treonina, metionina, leucina, isoleucina y valina. Después de cada comida, nuevamente se volvió somnolienta y marcadamente cetótica, con acidosis significativa. Su concentración plasmática de iones

CUADRO 58-6 Producción de $^{14}CO_2$ por 1 mL de eritrocitos procedentes de sujetos de control incubados durante 1 hora con [^{14}C-1] glucosa 10 mmol/L a 10 µCi/mmol

Adiciones	Control	+ *N*-Etilmaleimida
Ninguna	1 410 ± 70	670 ± 30
Ascorbato	8 665 ± 300	2 133 ± 200
Acetilfenilhidrazina	7 740 ± 320	4 955 ± 325
Azul de metileno	12 230 ± 500	11 265 ± 450

Las figuras muestran dpm, media ± desviación estándar para 5 incubaciones repetidas.

CUADRO 58-7 Actividad de las enzimas en el ciclo de la síntesis de urea en muestras de biopsia hepática del paciente en el caso 5 en el ingreso y después de 4 días con una dieta baja en proteínas y alta en carbohidratos, en comparación con las muestras en muestras *postmortem* de 6 bebés de la misma edad

	µmol de producto formado/min/mg de proteína		
	Paciente		
	Al ingreso	Después de 4 días	Sujetos de control
Carbomoil fosfato sintetasa	0.337	1.45	1.30 ± 0.40
Ornitina carbomoil-transferasa	29.0	28.6	18.1 ± 4.9
Arginosuccinato sintetasa	0.852	0.75	0.49 ± 0.09
Arginosuccinasa	1.19	0.95	0.64 ± 0.15
Arginasa	183	175	152 ± 56

CUADRO 58-8 Metabolismo de [^{13}C] propionato

	Paciente en el caso 5	Madre	Padre	Sujetos de control
Porcentaje recuperado en $^{13}CO_2$ durante 3 h	1.01	32.6	33.5	65 ± 5
dpm fijado/mg de fibroblastos proteína/ 30 min	5.0	230	265	561 ± 45

amónicos se encontraba dentro del rango normal y la prueba de tolerancia a la glucosa fue normal, con un aumento normal en la secreción de insulina después de la carga de glucosa.

La cromatografía líquida a alta presión de su plasma reveló una concentración anormalmente alta de ácido propiónico (24 µmol/L, rango de referencia de 0.7-3 µmol/L). El análisis de orina mostró una excreción considerable de metilcitrato (1.1 µmol/mg de creatinina), que normalmente no es detectable. También excretaba una cantidad significativa de acil carnitina de cadena corta (principalmente propionil carnitina) −28.6 µmol/24 horas en comparación con un rango de referencia de 5.7 + 3.5 µmol/24 horas.

El metabolismo de una dosis de prueba de [^{13}C]propionato administrada por infusión intravenosa se determinó en el paciente, sus padres y un grupo de sujetos de control; se cultivaron fibroblastos de piel y se determinó la actividad de la propionil-CoA carboxilasa mediante incubación con propionato y $NaH^{14}CO_3$, seguido de acidificación y medición de la radioactividad en los productos. Los resultados se muestran en el **cuadro 58-8**.

La medición de la carnitina en la primera muestra de biopsia hepática y en una muestra de biopsia muscular dieron los resultados que se muestran en el **cuadro 58-9**.

¿Qué conclusiones puede sacar de estos resultados?

¿Puede explicar la base bioquímica de la condición de la paciente?

CASO 6

La paciente es una niña de 9 meses, el segundo hijo de padres no emparentados. Nació a término después de un embarazo sin incidentes. Con un peso de 3.4 kg fue amamantada con la introducción gradual de sólidos a partir de los 3 meses de edad. Su madre informó que, si bien le gustaba el queso, la carne y el pescado, con frecuencia se ponía irritable, adquiría un tono gris después de las comidas y se volvía letárgica, somnolienta y "flexible" después de comer cantidades relativamente grandes de alimentos ricos en proteínas. Su orina tenía un olor curioso, descrito por su madre como "de gato".

A los 9 meses de edad ingresó en coma al servicio de urgencias, donde sufría convulsiones. Ella estuvo indispuesta durante los últimos 3 días, con fiebre leve. Durante las últimas 12 horas rechazó toda la comida y bebida que se le intentó dar. En este momento, pesaba 8.8 kg, y su longitud corporal era de 70.5 cm.

Los análisis de sangre de emergencia revelaron acidosis moderada (pH 7.25) e hipoglucemia grave (glucosa <1 mmol/L); la prueba realizada con tira reactiva para cuerpos cetónicos en plasma fue negativa. Se tomó una muestra de sangre para las pruebas de química clínica completa y se le administró glucosa intravenosa. En poco tiempo, recuperó la conciencia. Los resultados de los análisis de sangre se muestran en el **cuadro 58-10**.

Ella permaneció en el hospital durante varias semanas, mientras se realizaban más pruebas. En general, se encontraba bien durante este tiempo, aunque estaba somnolienta y severamente hipoglucémica e hiperventilada, si se le privaba de comida durante más de 8 a 9 horas. Su tono muscular era pobre, y estaba muy débil, con mucha menos fuerza (p. ej., al empujar los brazos o las piernas contra la mano del pediatra) de lo que se esperaría de una niña de su edad.

En una ocasión, su glucosa en sangre se controló a intervalos de 30 minutos durante 3 horas desde la vigilia, sin alimentarse. Cayó de 3.4 mmol/L al despertar a 1.3 mmol/L 3 horas después. Se le privó del desayuno nuevamente al día siguiente, y se midió la glucosa sanguínea a intervalos de 30 minutos durante 3 horas durante las cuales recibió una infusión intravenosa de betahidroxibutirato (50 µmol/min/kg de peso corporal). Durante la infusión de betahidroxibutirato, su glucosa plasmática se mantuvo entre 3.3 y 3.5 mmol/L.

En ningún momento se detectaron cuerpos cetónicos en su orina, y no hubo evidencia de ninguna excreción anormal de aminoácidos. Sin embargo, se detectaron varios ácidos orgánicos anormales en su orina, incluyendo cantidades relativamente grandes de ácidos 3-hidroxi-3-metilglutárico y 3-hidroxi-3-metilglutacónico. La excreción de estos dos ácidos aumentó considerablemente en dos condiciones:

1. Cuando fue alimentada con una comida relativamente alta en proteínas (se volvió grisácea, letárgica e irritable). Una muestra de sangre tomada después de dicha comida mostró hiperamonemia significativa (130 µmol/L), pero glucosa normal (5.5 mmol/L).

CUADRO 58-9 Carnitina en hígado y músculo

	Hígado		Músculo	
µmol/g peso de tejido	Paciente en el caso 5	Sujetos de control	Paciente en el caso 5	Sujetos de control
Carnitina total	0.23	0.83 ± 0.26	1.56	2.29 ± 0.75
Carnitina libre	0.05	0.41 ± 0.17	0.29	1.62 ± 0.67
Acilcarnitina de cadena corta	0.16	0.37 ± 0.20	1.16	0.58 ± 0.32
Acilcarnitina de cadena larga	0.01	0.05 ± 0.02	0.11	0.09 ± 0.03

CUADRO 58-10 Resultados de la química clínica para una muestra de plasma del paciente en el caso 6 al ingreso y rango de referencia para ayuno las 24 horas

	Paciente del caso 6	Rango de referencia
Glucosa, mmol/L	0.22	4-5
pH	7-25	7-35-7-45
Bicarbonato, mmol/L	11	21-29
Amonio, µmol/L	120	<50
Cuerpos cetónicos, mmol/L	indetectable	2.5-3.5
Ácidos grasos no esterificados, mmol/L	2	1.0-1.2
Insulina, mU/L	5	5-35
Glucagón, ng/mL	140	130-160

2. Cuando ayunó por más tiempo que el ayuno nocturno normal, con o sin la infusión de betahidroxibutirato.

Un precursor metabólico obvio del ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico es el 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA, *3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA*), que normalmente se escinde para producir acetoacetato y acetil-CoA mediante la enzima hidroximetilglutaril-CoA liasa (véase capítulo 22). Por tanto, la actividad de esta enzima se determinó en los leucocitos a partir de muestras de sangre del paciente y de sus padres. Los resultados se muestran en el **cuadro 58-11**.

El análisis de su orina también reveló una considerable excreción de carnitina, como se muestra en el **cuadro 58-12**.

¿Cuál es la probable base bioquímica del problema de la paciente? ¿En qué medida puede explicar sus diversos problemas metabólicos a partir de la información que le dan?

¿Qué manipulación(es) dietética(s) probablemente la mantendrán en buen estado de salud y evitarían futuras hospitalizaciones de emergencia?

CASO 7

El paciente es un niño de 9 meses, el segundo hijo de padres no emparentados; su hermano tiene 5 años, está en forma y saludable. El primero nació a término después de un embarazo sin incidentes, con un peso de 3.4 kg (el percentil 50), y evolucionó normalmente

CUADRO 58-11 Actividad de leucocitos HMG-CoA liasa, nmol Producto formado/min/g de proteína

Paciente en el caso 6	1.7
Madre	10.2
Padre	11.4
Sujetos de control	19.7 ± 2.0

CUADRO 58-12 Excreción urinaria de carnitina, nmol/mg de creatinina

	Paciente en el caso 6	Rango de referencia
Carnitina total	680	125 ± 75
Carnitina libre	31	51 ± 40
Acilcarnitina	649	74 ± 40

hasta los 6 meses de edad, después de mostrar cierto retraso en el desarrollo. También desarrolló un sarpullido escamoso fino en esta época, y su cabello, que era normal, se volvió delgado y escaso.

A los 9 meses de edad ingresó en el servicio de urgencias en estado de coma; los resultados de las pruebas de química clínica en una muestra de plasma se muestran en el **cuadro 58-13**.

La acidosis se trató con una infusión intravenosa de bicarbonato y recuperó el conocimiento. Durante los días siguientes continuó mostrando signos de acidosis (respiración rápida) e incluso después de una comida, los cuerpos cetónicos estaban presentes en la orina. Sus cuerpos plasmáticos de lactato, piruvato y cetona se mantuvieron altos; la glucosa plasmática estaba en el rango normal bajo y su insulina plasmática era normal tanto en ayuna como después de una carga de glucosa oral.

El análisis de orina reveló la presencia de cantidades significativas de varios ácidos orgánicos que normalmente no se excretan en la orina, incluidos:

- Lactato, piruvato y alanina
- Propionato, hidroxipropionato y propionil glicina
- Metilcitrato
- Tiglato y tiglilglicina
- 3-metil crotonato, 3-metilcrotonilglicina y 3-hidroxiisovalerato

La erupción cutánea y la pérdida de cabello recordaban los signos de la deficiencia de biotina (capítulo 44), como consecuencia del consumo excesivo de clara de huevo sin cocer. Sin embargo, su madre dijo que no comía huevos crudos o poco cocidos, aunque le gustaban los huevos duros y el extracto de levadura (que son fuentes ricas en biotina). Su biotina plasmática fue de 0.2 nmol/L (normal >0.8 nmol/L) y excretó una cantidad significativa de biotina

CUADRO 58-13 Resultados de química clínica para una muestra de plasma del paciente en el caso 7 al ingreso y rango de referencia para el ayuno las 24 horas

	Paciente en el caso 7	Rango de referencia
Glucosa, mmol/L	3.3	3.5-5.5
pH	6.9	7-35-7-45
Bicarbonato, mmol/L	2.0	21-25
Cuerpos cetónicos, mmol/L	21	1-2.5
Lactato, mmol/L	7-3	0.5-2.2
Piruvato, mmol/L	0.31	<0.15

en forma de biocitina (véase figura 44-14) y pequeños péptidos que contienen biocitina, que normalmente no son detectables en la orina.

Fue tratado con 5 mg de biotina por día. Después de 3 días, los ácidos orgánicos anormales ya no eran detectables en la orina, y sus cuerpos plasmáticos de lactato, piruvato y cetona habían vuelto a la normalidad, aunque aumentó su excreción de péptidos que contienen biocitina y biocitina. En esta etapa fue dado de alta del hospital, con un suministro de tabletas de biotina. Después de 3 semanas, su erupción cutánea comenzó a desaparecer y cesó la pérdida de cabello.

Tres meses más tarde, en una visita ambulatoria regular, se decidió suspender los suplementos de biotina. En una semana, los ácidos orgánicos anormales fueron nuevamente detectados en su orina, y fue tratado con dosis variables de biotina hasta que cesó la aciduria orgánica. Esto se logró con una ingesta de 150 µg/d (en comparación con la ingesta de referencia de 10-20 µg/d para un bebé menor de 2 años).

Continuó tomando 150 µg de biotina al día y ha mantenido una buena salud durante los últimos 4 años.

¿Puede explicar la base bioquímica del problema del paciente?

CASO 8

La paciente es una niña de 4 años, hija única de padres no consanguíneos, que nació a término después de un embarazo sin complicaciones. A los 14 meses de edad ingresó en el hospital con antecedentes de 1 día con vómitos persistentes, respiración rápida superficial y deshidratación. Al ingresar, su frecuencia respiratoria fue de 60/minuto y su pulso de 178/minuto. La primera columna en el **cuadro 58-14** muestra los resultados de las pruebas de química clínica en ese momento. Ella respondió rápidamente al bicarbonato intravenoso y a una sola inyección intramuscular de insulina.

Los resultados de una prueba de tolerancia a la glucosa 3 días después del ingreso fueron normales, y su respuesta a la insulina plasmática a una carga de glucosa oral estuvo dentro del rango normal. Fue dada de alta 7 días después de su ingreso, cuando se encontraba aparentemente bien. La segunda columna en el cuadro 58-14 muestra los resultados de las pruebas de química clínica realizadas poco antes de su egreso del hospital.

Fue readmitida en la institución sanitaria a los 16, 25, 31 y 48 meses de edad, con inquietud, marcha inestable, respiración rápida y superficial, vómitos persistentes y deshidratación. Cada crisis fue precedida por una enfermedad infantil común y disminución del apetito. Respondió bien a los líquidos por vía intravenosa y al bicarbonato. Con este medicamento y fluidos orales se trataron varios episodios más leves.

Durante su ingreso a los 25 meses de edad, se tomó una biopsia de piel, se cultivaron fibroblastos y se determinaron las actividades de las enzimas mitocondriales que se muestran en el **cuadro 58-15**.

¿Puede explicar la base bioquímica de la condición del paciente?

CASO 9

El paciente es un niño diabético de 5 años. Hay antecedentes familiares de diabetes, lo que sugiere un patrón dominante de la herencia. Secreta una cantidad significativa de insulina, aunque menos que los sujetos normales, lo que sugiere que el problema no es la diabetes tipo 1. A diferencia de la diabetes tipo 2, esta condición se desarrolla en la primera infancia, y generalmente se conoce como diabetes de los jóvenes que comienzan a madurar (MODY, *maturity-onset diabetes of the young*).

Los resultados de los estudios de la secreción de insulina por páncreas de conejo incubados *in vitro* con dos concentraciones de glucosa, con y sin la adición del mannoheptulosa de azúcar de 7

CUADRO 58-14 Resultados de química clínica para muestras de plasma y orina del paciente en el caso 8 al ingreso y nuevamente 1 semana después

	Ingreso agudo	1 semana después	Rango de referencia
Plasma			
Glucosa, mmol/L	14	5.1	3.5-5.5
Sodio, mmol/L	132	137	135-145
Cloruro, mmol/L	111	105	100-106
Bicarbonato, mmol/L	1.5	20	21-25
Urea, mmol/L	4.1	4.9	2.9-8.9
Lactato, mmol/L	7-3	5.5	0.5-2.2
Piruvato, mmol/L	0.31	0.25	<0.15
Alanina, mmol/L	–	852	99-313
Aspartato, mmol/L	–	Indetectable	3-11
pH	6.89	7-36	7-35–7-45
Orina			
Lactato, mg/g Creatinina	–	1.48	<0.1
Cuerpos cetónicos, usando ketostix	Muy alto	Negativo	Negativo

CUADRO 58-15 Actividades de las enzimas mitocondriales de fibroblastos de piel cultivada (nmol de producto formado/min/mg)

	Paciente en el caso 8	Sujetos de control
Citrato sintasa	32.8	76.3 ± 15.1
Reducción del citocromo c por NADH	11.6	16.7 ± 4.6
Reducción del citocromo c por succinato	9.43	12.3 ± 3.2
Citocromo oxidasa	37-7	50.3 ± 11.6
NADH deshidrogenasa	633	910 ± 169
Piruvato carboxilasa	0.03	1.62 ± 0.39
Piruvato deshidrogenasa	1.86	1.72 ± 0.35
Succinato oxidasa	190	210 ± 30

CUADRO 58-16 Secreción de insulina (µg/minuto/incubación) por el páncreas de conejo *in vitro*

	Control	+ Mannoheptulosa
3.3 mmol/L de glucosa	3.5	3.5
16.6 mmol/L de glucosa	12.5	3.5

Fuente: A partir de los datos informados por Coore HG, Randle PJ. Biochemical J 1964;93:66-77.

carbonos, que es un inhibidor de la fosforilación de glucosa a glucosa-6-fosfato son mostrados en el **cuadro 58-16**.

Dos enzimas catalizan la formación de glucosa-6-fosfato a partir de glucosa (véase capítulo 17):

- La hexoquinasa se expresa en todos los tejidos; tiene un K_m para la glucosa de ~0.15 mmol/L.
- La glucoquinasa se expresa sólo en el hígado y las betacélulas del páncreas; tiene un K_m para la glucosa de ~20 mmol/L.

El rango normal de glucosa en el plasma está entre 3.5 y 5 mmol/L, aumentando en sangre periférica a 8 a 10 mmol/L después de una ingesta moderadamente alta de glucosa. Después de una comida, la concentración de glucosa en la sangre portal, que va del intestino delgado al hígado, puede ser considerablemente más alta que esta.

¿Qué efecto tendrán los cambios en la concentración plasmática de glucosa sobre la tasa de formación de glucosa-6-fosfato catalizada por hexoquinasa?

¿Qué efecto tendrán los cambios en la concentración plasmática de glucosa sobre la tasa de formación de glucosa-6-fosfato catalizada por la glucoquinasa?

¿Cuál es la importancia de la glucoquinasa en el hígado?

Froguel y colaboradores (1993) informaron estudios del gen de la glucoquinasa en varias familias afectadas por MODY y también en familias no afectadas. Los autores publicaron una lista de 16 variantes del gen de la glucoquinasa, que se muestra en el **cuadro 58-17**. Todos sus pacientes con MODY tenían una anomalía del gen.

¿Cuáles son los cambios de aminoácidos asociados con cada mutación en el gen?

¿Por qué las mutaciones que afectan a los codones 4, 10 y 116 no tienen ningún efecto sobre las personas involucradas?

¿Qué conclusiones puede sacar de esta información?

CUADRO 58-17 Mutaciones en el gen de la glucoquinasa

Codón	Cambio de nucleótidos	Cambio de aminoácido	Efecto
4	GAC ⇒ AAC	?	Ninguno
10	GCC ⇒ GCT	?	Ninguno
70	GAA ⇒ AAA	?	MODY
98	CAG ⇒ TAG	?	MODY
116	ACC ⇒ ACT	?	Ninguno
175	GGA ⇒ AGA	?	MODY
182	GTG ⇒ ATG	?	MODY
186	CGA ⇒ TGA	?	MODY
203	GTG ⇒ GCG	?	MODY
228	ACG ⇒ ATG	?	MODY
261	GGG ⇒ AGG	?	MODY
279	GAG ⇒ TAG	?	MODY
300	GAG ⇒ AAG	?	MODY
300	GAG ⇒ CAG	?	MODY
309	CTC ⇒ CCC	?	MODY
414	AAG ⇒ GAG	?	MODY

Fuente: A partir de los datos informados por Froguel P, *et al*. *N Engl J Med* 1993; 328:697-702.

Los mismos autores también estudiaron la secreción de insulina en respuesta a la infusión de glucosa en pacientes con MODY y sujetos de control. Se les administró una infusión intravenosa de glucosa; la velocidad de infusión se varió para mantener una concentración plasmática constante de glucosa de 10 mmol/L. Sus concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina se midieron antes y después de 60 minutos de infusión de la glucosa; los resultados se muestran en el **cuadro 58-18**.

¿Qué conclusiones puede sacar de esta información sobre el probable papel de la glucoquinasa en las betacélulas del páncreas?

¿Puede deducir la forma en que las betacélulas del páncreas detectan un aumento en la glucosa plasmática y señalan la secreción de insulina?

CUADRO 58-18 Concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina antes y después de 60 minutos de infusión de glucosa

	Glucosa plasmática (mmol/L)		Insulina (mU/L)	
	Pacientes con MODY	Sujetos de control	Pacientes con MODY	Sujetos de control
Ayuno	7-0 ± 0.4	5.1 ± 0.3	5 ± 2	6 ± 2
60 minutos de infusión de glucosa	Mantenido a 10 mmol/L variando la tasa de infusión		12 ± 7	40 ± 11

Fuente: A partir de los datos informados por Froguel P, *et al. N Engl J Med* 1993;328:697-702.

Preguntas del examen

Sección XI. Temas especiales (C)

1. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones con respecto a las vías de coagulación sanguínea NO ES CORRECTA?
   A. Los componentes del complejo Xase (tenasa) extrínseco son factor VIIa, factor tisular, Ca^{2+} y factor X.
   B. Los componentes del complejo Xase (tenasa) intrínseco son los factores IXa y VIIIa, Ca^{2+} y el factor X.
   C. Los componentes del complejo protrombinasa son los factores Xa y Va, Ca^{2+} y factor II (protrombina).
   D. Los complejos extrínsecos e intrínsecos de Xase y el complejo de protrombinasa requieren fosfatidilserina procoagulante aniónica en la lipoproteína de baja densidad (LDL, *low-density lipoprotein*) para su ensamblaje.
   E. La fibrina formada por la escisión del fibrinógeno por la trombina se entrecruza covalentemente por la acción del factor XIIIa, que a su vez se forma por la acción de la trombina en el factor XIII.
2. ¿En cuál de los siguientes factores de coagulación un paciente que toma warfarina para su trastorno trombótico tiene disminuido los residuos de Gla (γ-carboxiglutamato)?
   A. Factor tisular
   B. Factor XI
   C. Factor V
   D. Factor II (protrombina)
   E. Fibrinógeno
3. Un hombre de 65 años de edad sufre un infarto de miocardio y se le da activador del plasminógeno tisular dentro de las 6 horas del inicio de la trombosis para lograr ¿cuál de los siguientes efectos?
   A. Prevenir la activación de la vía extrínseca de la coagulación
   B. Inhibir la trombina
   C. Mejorar la degradación de los factores VIIIa y Va
   D. Mejorar la fibrinólisis
   E. Inhibir la agregación plaquetaria
4. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones con respecto a la activación plaquetaria en la hemostasia y la trombosis NO ES CORRECTA?
   A. Las plaquetas se adhieren directamente al colágeno subendotelial a través de GPIa-IIa y GPVI, mientras que la unión de GPIb-IX-V está mediada por el factor de Von Willebrand.
   B. El agente agregante tromboxano A_2 se forma a partir del ácido araquidónico liberado de los fosfolípidos de la membrana de las plaquetas por la acción de la fosfolipasa A_2.
   C. El agente agregante ADP se libera de los gránulos densos de las plaquetas activadas.
   D. El agente agregante trombina activa la fosfolipasa Cβ intracelular, que forma las moléculas efectoras internas 1,2-diacilglicerol y 1,4,5-inositol trisfosfato a partir del fosfolípido fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato de la membrana.
   E. Los receptores de ADP, el receptor de tromboxano A_2, los receptores de trombina PAR-1 y PAR-4 y el receptor de fibrinógeno GPIIb-IIIa son ejemplos de receptores acoplados a proteína G.
5. Una adolescente de 15 años de edad se presenta en la clínica con hematomas en las extremidades inferiores. De las siguientes opciones, ¿cuál es la menos probable para explicar los signos de sangrado exhibidos por este individuo?
   A. Hemofilia A
   B. Enfermedad de Von Willebrand
   C. Un bajo recuento de plaquetas
   D. Ingestión de aspirina
   E. Un trastorno plaquetario con ausencia de gránulos de almacenamiento
6. Con respecto a la carcinogénesis química, seleccione la única declaración FALSA:
   A. Aproximadamente 80% de los cánceres humanos pueden deberse a factores ambientales.
   B. En general, los carcinógenos químicos interactúan no covalentemente con el DNA.
   C. Algunas sustancias químicas se convierten en cancerígenos, por enzimas, generalmente especies del citocromo P450.
   D. La mayoría de los carcinógenos empleados últimamente son electrófilos y atacan a los grupos nucleófilos en el DNA.
   E. El ensayo de Ames es una prueba útil para detectar químicos con mutagenicidad; sin embargo, se requieren pruebas en animales para demostrar que una sustancia química es carcinogénica.
7. Con respecto a la carcinogénesis viral, seleccione la única declaración FALSA:
   A. Aproximadamente 15% de los cánceres humanos pueden ser causados por virus.
   B. Sólo se sabe que los virus RNA son carcinógenos.
   C. Los virus RNA que causan o están asociados con tumores incluyen el virus de la hepatitis C.
   D. Los retrovirus poseen transcriptasa inversa, que copia RNA a DNA.
   E. Los virus tumorales actúan desregulando el ciclo celular, inhibiendo la apoptosis e interfiriendo con los procesos de señalización celular normal.
8. Con respecto a los oncogenes y genes supresores de tumores, seleccione la única declaración FALSA:
   A. Ambas copias de un gen supresor tumoral deben mutarse para que su producto pierda su actividad.
   B. La mutación de un oncogén ocurre en las células somáticas y no se hereda.
   C. El producto de un oncogén muestra una ganancia de función que indica la división celular.
   D. RB y P53 son genes supresores de tumores; MYC y RAS son oncogenes.
   E. Se cree que la mutación de un gen supresor tumoral o un oncogén es suficiente para causar cáncer.
9. En cuanto a los factores de crecimiento, seleccione la única declaración FALSA:
   A. Incluyen una gran cantidad de polipéptidos, la mayoría de los cuales estimulan el crecimiento celular.
   B. Los factores de crecimiento pueden actuar de manera endocrina, paracrina o autocrina.
   C. Ciertos factores de crecimiento, como TGF-β, pueden actuar de una manera inhibidora del crecimiento.
   D. Algunos receptores para los factores de crecimiento tienen actividad de tirosina quinasa; las mutaciones de estos receptores ocurren en las células cancerosas.
   E. PDGF estimula la fosfolipasa A_2, que hidroliza PIP_2 para formar DAG e IP_3, los cuales son segundos mensajeros.
10. Respecto al ciclo celular, seleccione la única declaración FALSA:
    A. Las células que transitan el ciclo celular pueden residir dentro de cualquiera de las cinco fases del ciclo celular (es decir, G_1, G_0, S, G_2 y M).
    B. Las células cancerosas generalmente tienen un tiempo de generación más corto que las células normales y hay menos de ellas en la fase G_0.

C. Se ha informado una variedad de mutaciones en ciclinas y CDK en células cancerosas.
D. RB es un regulador del ciclo celular, donde se une al factor de transcripción E2F, lo que permite la progresión de la célula de la fase G1 a la fase S.
E. Cuando ocurre daño al DNA, p53 aumenta en cantidad y activa la transcripción de genes que retrasan el tránsito a través del ciclo.

11. Respecto a los cromosomas y la inestabilidad genómica, seleccione la única declaración FALSA:
A. Las células cancerosas pueden tener un fenotipo mutador, lo que significa que tienen mutaciones en los genes que afectan la replicación y reparación del DNA, la segregación cromosómica, la vigilancia del daño en el DNA y la apoptosis.
B. La inestabilidad cromosómica se refiere a la ganancia o pérdida de cromosomas causada por anomalías de la segregación cromosómica durante la mitosis.
C. La inestabilidad de microsatélites implica expansión o contracción de los microsatélites debido a anomalías en la reparación por escisión de nucleótidos.
D. La aneuploidía (cuando el número cromosómico de una célula no es un múltiplo del número haploide) es una característica común de las células tumorales.
E. Las anomalías de la cohesión cromosómica y de la unión cinetocoro-microtúbulo pueden contribuir a la inestabilidad cromosómica y aneuploidía.

12. Seleccione la única declaración FALSA:
A. La actividad de la telomerasa es frecuentemente elevada en las células cancerosas.
B. Varios tipos de cáncer tienen una fuerte predisposición o susceptibilidad hereditaria; estos incluyen el síndrome de Li-Fraumeni y el retinoblastoma.
C. Los productos de BRCA1 y BRCA2 (responsables del cáncer de mama hereditario tipos I y II) parecen estar involucrados en la reparación del DNA.
D. Las células tumorales generalmente muestran una alta tasa de glucólisis anaeróbica; esto puede explicarse, al menos en parte, por la presencia en muchas células tumorales de la isozima PK-2, que se asocia con una menor producción de ATP y posiblemente un mayor uso de metabolitos para acumular biomasa.
E. El dicloroacetato, un compuesto que se ha demostrado que muestra actividad anticancerígena, inhibe la piruvato carboxilasa y desvía al piruvato de la glucólisis.

13. Seleccione la única declaración FALSA:
A. La secuenciación del genoma completo y del exoma revela información nueva e importante sobre los números y tipos de mutaciones en las células cancerosas.
B. Las anomalías de los mecanismos epigenéticos, como la desmetilación de residuos de citosina, la modificación anormal de las histonas y la remodelación aberrante de la cromatina, se detectan cada vez más en las células cancerosas.
C. La persistencia de las células madre del cáncer (que a menudo son relativamente latentes y tienen sistemas activos de reparación del DNA) puede ayudar a explicar algunas de las deficiencias de la quimioterapia.
D. La angiogenina es un inhibidor de la angiogénesis.
E. La inflamación crónica, posiblemente a través del aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno, predispone al desarrollo de ciertos tipos de cáncer.

14. Con respecto a la apoptosis, seleccione la única declaración FALSA:
A. La apoptosis puede iniciarse mediante la interacción de ciertos ligandos con receptores específicos en la superficie celular.
B. El estrés celular y otros factores activan la ruta mitocondrial de la apoptosis; la liberación de citocromo P450 en el citoplasma es un evento importante en esta vía.
C. Un patrón distinto de fragmentos de DNA se encuentra en las células apoptóticas; es causado por DNasa activada por caspasa.
D. La caspasa 3 digiere las proteínas celulares como la lamina, ciertas proteínas del citoesqueleto y varias enzimas, lo que lleva a la muerte celular.
E. Las células cancerosas han adquirido diversas mutaciones que les permiten evadir la apoptosis, prolongando su existencia.

15. Seleccione la única declaración FALSA:
A. Las proteínas involucradas en la adhesión celular incluyen caderinas, integrinas y selectinas.
B. Las cantidades disminuidas de E-caderina en las superficies de las células cancerosas pueden ayudar a explicar la disminución de la adhesividad que muestran las células tumorales.
C. El aumento de la actividad de la GlcNAc transferasa V en células cancerosas puede conducir a un enrejado de glucano alterado en la superficie celular, lo que puede predisponer a su diseminación.
D. Las células cancerosas secretan metaloproteinasas que degradan las proteínas en la ECM y facilitan su propagación.
E. Todas las células tumorales tienen la capacidad genética de colonizar.

16. El número de enzimas dedicadas a reparar el daño hidrolítico, oxidativo y fotoquímico de los polinucleótidos como el DNA es mucho mayor que el número dedicado a la reparación de las proteínas dañadas. Identifique a continuación la declaración de la lista que es INCONSISTENTE con esta observación:
A. Los polinucleótidos absorben la luz ultravioleta de manera más eficiente que las proteínas.
B. Las proteínas contienen azufre, un elemento que es susceptible a la oxidación.
C. En general, las proteínas se vuelven más frecuentes que el DNA.
D. Las mutaciones en un gen estructural tienen el potencial de alterar las proteínas que codifican, así como el DNA mismo.
E. Si no se corrigen, las mutaciones del genoma se transmitirán a las generaciones siguientes.

17. ¿Cuál de las siguientes opciones NO es una característica de la hipótesis mitocondrial del envejecimiento?
A. Las especies de oxígeno reactivo se generan como un subproducto de la cadena de transporte de electrones.
B. Las mitocondrias carecen de la capacidad de reparar el DNA dañado.
C. Muchos de los complejos en la cadena de transporte de electrones se construyen a partir de una mezcla codificada nuclearmente y subunidades codificadas mitocondrialmente.
D. Las mitocondrias dañadas forman agregados resistentes a las proteasas.
E. Las mitocondrias dañadas pueden desencadenar muerte celular programada por apoptosis.

18. ¿Cuál de las siguientes opciones NO es un componente del conjunto de agentes de reparación y prevención de daños de la célula?
A. Superóxido dismutasa
B. Glutatión
C. Isoaspartil metiltransferasa

D. Catalasa
E. Caspasa 7

19. Seleccione una de las siguientes afirmaciones que describa un aspecto de la teoría metabólica del envejecimiento:
    A. Los niveles elevados de glucosa plasmática promueven la formación de agregados de proteínas entrecruzadas.
    B. El daño de ROS se multiplica por la tendencia de los radicales de oxígeno a multiplicarse a través de reacciones en cadena.
    C. Las dietas calóricas restringidas promueven una actividad metabólica más baja y más eficiente.
    D. El flujo sanguíneo al músculo cardiaco se restringe con el tiempo debido a la formación de placas arteriales inducida por colesterol.
    E. La actividad física vigorosa se correlaciona con la pérdida de células STEM.

20. De las siguientes afirmaciones, seleccione la que NO ES CORRECTA:
    A. Los telómeros evitan la recombinación genética tapando los extremos de las moléculas lineales de DNA.
    B. Los genes del envejecimiento pueden distinguirse por su impacto en la vida de un organismo.
    C. La corta vida de *Caenorhabditis elegans* los convierte en un organismo modelo atractivo para el estudio del envejecimiento.
    D. El acortamiento de los telómeros es una consecuencia de la naturaleza discontinua del proceso mediante el cual la "cadena rezagada" se sintetiza durante la replicación cromosómica.
    E. La actividad de la telomerasa es alta tanto en células STEM como en muchas células cancerosas.

El banco de respuestas

Sección I. Proteínas: estructura y función

1. **B.**
2. **D.**
3. Que la fermentación requería células intactas fue desmentida por el descubrimiento de que un extracto de levadura libre de células podría convertir el azúcar en etanol y dióxido de carbono. Este descubrimiento llevó a la identificación de los intermedios, las enzimas y los cofactores de la fermentación y la glucólisis.
4. La fermentación cesó con el tiempo, pero se reanudó cuando se añadió ortofosfato inorgánico. Esto condujo al aislamiento de compuestos intermedios fosforilados. Otros experimentos que utilizaron extracto de levadura caliente condujeron al descubrimiento de ATP, ADP y NAD.
5. Las preparaciones usadas para identificar metabolitos y enzimas incluyeron hígado perfundido, rodajas de hígado y homogeneizados tisulares fraccionados por centrifugación.
6. Radiactivos ^{14}C, ^{3}H y ^{32}P facilitaron el aislamiento de los intermedios del metabolismo de los carbohidratos, lípidos, nucleótidos y aminoácidos y permitieron rastrear las relaciones de los productos precursores entre productos intermedios.
7. La propuesta de Garrod de que la alcaptonuria, el albinismo, la cistinuria y la pentosuria eran el resultado de "errores congénitos del metabolismo" condujo al campo de la genética bioquímica.
8. La regulación de la biosíntesis del colesterol ilustra el vínculo entre la bioquímica y la genética. Los receptores de superficie celular internalizan el colesterol plasmático, que luego regula la biosíntesis del colesterol. Los receptores defectuosos dan como resultado una hipercolesterolemia extrema.
9. Los organismos modelo clave incluyen levadura, moho de limo, mosca de la fruta y un pequeño gusano redondo, cada uno con un tiempo de generación corto y fácilmente mutado.
10. **D**. Los hidrocarburos son insolubles en agua.
11. **A**. De los aminoácidos proteicos, sólo la fenilalanina, la tirosina y el triptófano absorben la luz a 280 nm.
12. **D**. Cuando están presentes en solución a un pH igual a su pKa, sólo la mitad de las moléculas de un ácido débil monofuncional (p. ej., ion amonio o ácido acético) están en el estado cargado. La movilidad máxima ocurrirá en un pH 3 o más unidades de pH por debajo del pKa para el ion amonio, o en un pH 3 o más unidades de pH por encima del pKa para el ácido acético.
13. **C**. A su pI, un aminoácido tiene un número igual de cargas positivas y negativas, pero no tiene una carga global *neta*.
14. **C.** La técnica de Edman implica derivatización sucesiva y eliminación de residuos N-terminales.
15. La autoasociación en un entorno acuoso como una gota grande minimiza el área de la superficie en contacto con el agua y, por tanto, el número de moléculas de agua cuyos grados de libertad de rotación están restringidos.
16. Las bases y ácidos fuertes se disocian esencialmente en agua, NaOH como Na^+ y OH^-. Por el contrario, un ácido débil como el ácido pirúvico se disocia sólo parcialmente en la solución.
17. **E**. La espectrometría de masas en tándem puede separar mezclas complejas de péptidos.
18. **E**. Muchas proteínas se someten a procesamiento postraduccional, por ejemplo, insulina, que se sintetiza como un único polipéptido que la proteólisis posterior convierte en dos cadenas de polipéptidos unidas por enlaces disulfuro.
19. pI es el pH al que una molécula no tiene carga *neta*. En este ejemplo, el pI es un pH a medio camino entre el tercer y cuarto valores de pK_a: pI = (6.3 + 7.7)/2 = 7.0. Como el pH se ajusta de ácido a básico, la carga neta cambiará sucesivamente de la siguiente manera: +3, +2, +1, 0, −1, −2, −3.
20. Todos los aminoácidos de la proteína son *esenciales*, ya que todos son necesarios para la síntesis de proteínas, pero los aminoácidos "nutricionalmente esenciales" (10 para los humanos) son aquellos que un organismo no puede sintetizar. Muchas vitaminas son "dietéticamente esenciales", aunque la vitamina C es *dietéticamente esencial* sólo para humanos, pez gato y otros organismos.
21. **D.** Conjuntos de genes, también denominados chips de DNA o matrices de DNA, contienen múltiples sondas de DNA con diferentes secuencias unidas en ubicaciones conocidas en un soporte sólido. La hibridación de sondas de DNA o RNA complementarias en ubicaciones particulares proporciona información sobre su composición de ácidos nucleicos.
22. **D.** Una interacción de enlace de hidrógeno implica el residuo en el cuarto lugar a lo largo de la hélice.
23. **E.** Los priones no contienen ácido nucleico, sólo proteína. Por tanto, las enfermedades priónicas se transmiten por proteínas sin la participación de DNA o RNA.
24. A diferencia de pK_2 (6.82) de ácido fosfórico, los otros dos grupos disociantes de ácido fosfórico no pueden servir como tampones efectivos a un pH fisiológico porque están completamente disociados o predominantemente protonados a pH 7.
25. A: grupos carboxilo (pK_1 a pK3) y grupos amino (pK_a a pK_7)
    B: menos uno
    C: más 0.5
    D: Hacia el cátodo
26. Para actuar como un tampón eficaz, un compuesto debe tener un pK_a no inferior a 0.5 unidades de pH eliminadas del pH deseado, y debe estar presente en una cantidad suficiente.
27. La carboxilación de un residuo de glutamilo forma γ-carboxiglutamato, un potente quelante del Ca^{++} requerido para la coagulación de la sangre y la disolución del coágulo. La 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina están presentes en varias proteínas estructurales.
28. (a) El cobre es un grupo protésico esencial para la amina oxidasa que convierte la lisina en hidroxilisina que participa en la formación de enlaces cruzados covalentes que fortalecen el colágeno.
    (b) El ácido ascórbico es esencial para que la prolina hidroxilasa convierta la prolina en hidroxiprolina, que proporciona enlaces de hidrógeno intercatenarios que estabilizan la triple hélice de colágeno.
29. Las secuencias de señal dirigen las proteínas a ubicaciones subcelulares específicas en la célula, o para la secreción.

Sección II. Enzimas: cinética, mecanismo, regulación y función de los metales de transición

1. La anhidrasa carbónica cataliza la hidratación del dióxido de carbono para formar ácido carbónico. Una porción de este ácido débil, a su vez, se disocia para producir bicarbonato y un protón. A medida que la concentración de dióxido de carbono disminuye, el ácido carbónico se descompone en dióxido de carbono y agua. Para compensar la pérdida de ácido carbónico, el bicarbonato y los protones se recombinan para restablecer el equilibrio, lo que lleva a una disminución neta de [H+] y un aumento del pH.

2. **D.**
3. **E.**
4. **B.**
5. **A.**
6. **E.**
7. **B.**
8. **C.**
9. **A.**
10. **D.**
11. **E.**
12. **B.**
13. **B.**
14. **C.**
15. **D.**
16. **A.**
17. **B.**
18. **D.**
19. **A.**

Sección III. Bioenergética

1. **A**. Una reacción con una ΔG negativa es exergónica, procede espontáneamente y se libera energía libre.
2. **E.** En una reacción exergónica, ΔG es negativa y en una reacción endergónica es positiva. Cuando ΔG es cero, la reacción está en equilibrio.
3. **B.** Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, la ΔG^0 es el cambio estándar de energía libre. Para la reacción bioquímica, el pH (7.0) también se define y esto es $\Delta G^{0'}$.
4. **D.** El ATP contiene dos enlaces de fosfato de alta energía y es necesario para conducir reacciones endergónicas. No se almacena en el cuerpo y, en presencia de desacopladores, su síntesis está bloqueada.
5. **A.** El citocromo c reducido se oxida por la citocromo c oxidasa (complejo IV de la cadena respiratoria), con la reducción concomitante de oxígeno molecular a dos moléculas de agua.
6. **E.** La citocromo oxidasa no es una deshidrogenasa, aunque todos los demás citocromos se clasifican como tales.
7. **B.** Aunque los citocromos p450 se localizan principalmente en el retículo endoplásmico, se encuentran en las mitocondrias de algunos tejidos.
8. **D.** La oxidación de una molécula de NADH a través de la cadena respiratoria genera 2.5 moléculas de ATP en total. Uno se forma a través del complejo I, 1 a través del complejo II y 0.5 a través del complejo IV.
9. **C.** 1.5 moléculas de ATP se forman en total ya que $FADH_2$ se oxida, 1 a través del complejo II y 0.5 a través del complejo IV.
10. **E.** La oligomicina bloquea la oxidación y la síntesis de ATP ya que previene el flujo de electrones de vuelta a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa.
11. **A.** Los desacopladores permiten que los electrones vuelvan a entrar en la matriz mitocondrial sin pasar por la ATP sintasa.
12. **E.** En presencia de un desacoplador, la energía liberada cuando los electrones fluyen hacia la matriz mitocondrial no se captura como ATP y se disipa como calor.
13. **C.** La termogenina es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo marrón. Su función es generar calor corporal.
14. **D.** Se generan tres moléculas de ATP para cada revolución de la molécula de ATP sintasa.
15. **B.** La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna causada por el transporte de electrones debe ser negativa en el lado de la matriz de modo que los protones se fuercen a reingresar a través de la ATP sintasa para descargar el gradiente.

Sección IV. Metabolismo de los carbohidratos

1. **B.**	8. **B.**	15. **D.**	22. **A.**
2. **B.**	9. **B.**	16. **E.**	23. **B.**
3. **A.**	10. **E.**	17. **E.**	24. **C.**
4. **D.**	11. **C.**	18. **C.**	25. **D.**
5. **C.**	12. **D.**	19. **C.**	26. **E.**
6. **C.**	13. **D.**	20. **C.**	27. **A.**
7. **E.**	14. **D.**	21. **D.**	28. **B.**

Sección V. Metabolismo de lípidos

1. **D.**
2. **D.**
3. **A.** Los gangliósidos se derivan de la glucosilceramida.
4. **C.** A, B, D y E se clasifican como antioxidantes preventivos ya que actúan reduciendo la velocidad de iniciación de la cadena.
5. **D.**
6. **B.**
7. **D.** Los ácidos grasos de cadena larga se activan al unirse a CoA, pero el acil CoA graso no puede atravesar la membrana mitocondrial interna. Después de la transferencia del grupo acilo de CoA a carnitina por la carnitina palmitoil transferasa (CPT)-I, la acilcarnitina es transportada por carnitina-acilcarnitina translocasa a cambio de una carnitina. Dentro de la matriz, la CPT-II transfiere el grupo acilo a CoA y la enzima translocasa vuelve a tomar la carnitina en el espacio intermembrana.
8. **E**. La descomposición del ácido palmítico (C16) requiere 7 ciclos de β-oxidación, cada uno produciendo 1 molécula de $FADH_2$ y 1 de NADH, y da como resultado la formación de ocho moléculas de acetil CoA 2C.
9. **B.** Cuando la acción de carnitina palmitoil transferasa-I es inhibida por malonil CoA, los grupos acilo grasos son incapaces de entrar en la matriz de la mitocondria donde tiene lugar su degradación por β-oxidación.
10. **C.** Los humanos (y la mayoría de los mamíferos) no poseen enzimas capaces de introducir un doble enlace en ácidos grasos más allá de Δ9.
11. **D.** La inhibición del transportador de ácido tricarboxílico hace que disminuyan los niveles de citrato en el citosol y favorece la inactivación de la enzima.
12. **A.**
13. **C.**
14. **E.**
15. **E.** El glucagón se libera cuando los niveles de glucosa en sangre son bajos. En esta situación, los ácidos grasos se descomponen para obtener energía y se inhibe la síntesis de ácidos grasos.
16. **E.** El glucagón, la ACTH, la adrenalina y la vasopresina promueven la activación de la enzima.
17. **B.**
18. **D.**
19. **A.** Los quilomicrones son lipoproteínas ricas en triacilglicerol sintetizadas en la mucosa intestinal usando grasa de la dieta y secretadas a la linfa.
20. **E.** VLDL es sintetizado y secretado por el hígado, y el tejido adiposo y el músculo absorben los ácidos grasos liberados por la acción de la lipoproteína lipasa.
21. **D.** La lipoproteína de muy baja densidad secretada por el hígado se convierte en lipoproteína de densidad intermedia y luego en lipoproteína de baja densidad (LDL, *low density lipoprotein*) por la acción de las lipasas y la transferencia de colesterol y proteínas de la lipoproteína de alta densidad. LDL libera colesterol a los tejidos extrahepáticos y también es eliminado por el hígado.
22. **A.** Los quilomicrones se sintetizan en el intestino y se secretan en la linfa después de una comida rica en grasas.
23. **E.** Los quilomicrones y sus restos se eliminan de la circulación rápidamente después de una comida, y luego aumenta la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad por el hígado. Los cuerpos de cetona y los ácidos grasos no esterificados se elevan en ayunas.
24. **C.** Cuando el éster de colesteril se transfiere de HDL a otras lipoproteínas por la acción de CETP, finalmente se libera al hígado en VLDL, IDL o LDL.
25. **D.** Los quilomicrones se metabolizan por la lipoproteína lipasa cuando se unen a la superficie de las células endoteliales. Este proceso libera ácidos grasos de triacilglicerol que luego son absorbidos por los tejidos. Las partículas remanentes de quilomicrones más pequeñas y enriquecidas en colesterol se liberan en la circulación y son eliminadas por el hígado.
26. **C.** El colesterol se sintetiza en el retículo endoplásmico a partir del acetil CoA. El paso limitante de la velocidad es la formación de mevalonato a partir de 3-hidroxi 3-metilglutaril-CoA por HMG CoA reductasa y el lanosterol es el primer intermediario cíclico.

27. **C.**
28. **C.** Los ácidos biliares secundarios se producen por la modificación de los ácidos biliares primarios en el intestino.
29. **B.** Si el receptor de LDL es defectuoso, el LDL no se elimina de la sangre, lo que causa hipercolesterolemia grave.
30. **A.** PCSK9 regula el reciclado de los receptores de LDL a la superficie celular después de que ha tenido lugar la endocitosis. La inhibición de la actividad de PCSK9, por tanto, aumenta el número de moléculas de receptor de LDL en la superficie de la célula, lo que conduce a un aumento de la tasa de liberación y a niveles más bajos de colesterol en la sangre.

Sección VI. Metabolismo de proteínas y aminoácidos

1. **D.** La fenilalanina hidroxilasa cataliza una reacción funcionalmente irreversible, y por tanto no puede convertir la tirosina en fenilalanina.
2. **E.** La histamina es un catabolito, no un precursor, de la histidina.
3. **B.** La inserción de selenocisteína en un péptido ocurre durante, no después de la traducción.
4. **C.** La transaminación dependiente de piridoxal es la primera reacción en la degradación de todos los aminoácidos comunes excepto la treonina, la lisina, la prolina y la hidroxiprolina.
5. **B.** Glutamina.
6. **C.** El esqueleto de carbono de la alanina es el que más contribuye a la gluconeogénesis hepática.
7. **B.** El ATP y la ubiquitina participan en la degradación de las proteínas y proteínas no asociadas a membranas con vidas medias **cortas**.
8. **C.** Debido a la falta de incorporación de NH_4^+ a la urea, los signos clínicos de trastornos metabólicos del ciclo de la urea incluyen *alcalosis*, no acidosis.
9. **E.** La fumarasa *citosólica* y la malato deshidrogenasa *citosólica* convierten la fumarasa en oxalacetato después de una reacción *citosólica* del ciclo de la urea. La función *mitocondrial* de la fumarasa y de la malato deshidrogenasa en el ciclo de TCA, no de la biosíntesis de urea.
10. **A.** Una serina, no treonina, proporciona el resto de tioetanol de la coenzima A.
11. **E.** Decarboxilación de *glutamato*, no *glutamina* forma GABA.
12. La 5-hidroxilisina y el γ-carboxiglutamato representan ejemplos de modificación postraduccional de residuos de peptidil-lisil y peptidil-glutamil, respectivamente. Por el contrario, la selenocisteína se incorpora cotraduccionalmente a las proteínas, de la misma manera que los otros 20 aminoácidos proteicos comunes. El proceso es complejo e involucra el tRNA inusual denominado $tRNA^{sec}$.
13. La biosíntesis de los aminoácidos que son dietéticamente esenciales para los humanos requiere múltiples reacciones. Dado que las dietas humanas normalmente contienen cantidades adecuadas de estos aminoácidos, la pérdida de los genes que pueden codificar estas enzimas "innecesarias" y la falta de necesidad de gastar la energía necesaria para copiarlos proporcionan una ventaja evolutiva.
14. Dado que la glutamato deshidrogenasa desempeña múltiples funciones centrales en el metabolismo, su completa ausencia sería, sin lugar a dudas, fatal.
15. **E.** La albúmina no es una hemoproteína. En casos de anemia hemolítica, la albúmina puede unirse al metheme, pero a diferencia de las otras proteínas enumeradas, la albúmina no es una hemoproteína.
16. **A.** La porfiria intermitente aguda se debe a mutaciones en el gen de la uroporfirina I sintasa
17. **A.** La bilirrubina es un tetrapirrol *lineal*.
18. **D.** La ictericia grave, el dolor abdominal superior y la pérdida de peso más los resultados de laboratorio que indican un tipo obstructivo de ictericia son consistentes con el cáncer de páncreas.
19. El ensayo aprovecha la ventaja de la diferente solubilidad en agua de la bilirrubina conjugada y no conjugada. Se llevan a cabo dos ensayos, uno en ausencia y un segundo en presencia de un disolvente orgánico, típicamente metanol. Los grupos de ácido glucurónico altamente polares de bilirrubina conjugada transmiten solubilidad en agua que asegura que reaccionará con el reactivo colorimétrico incluso en ausencia de cualquier disolvente orgánico añadido. Los datos de un ensayo realizado en *ausencia* de metanol añadido, denominado "bilirrubina directa", es glucurónido de bilirrubina. Un segundo ensayo realizado en *presencia* de metanol agregado mide bilirrubina *total*, es decir, bilirrubina conjugada y no conjugada. La *diferencia* entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa, informada como "bilirrubina indirecta", es bilirrubina no *conjugada*.
20. La biosíntesis de hem a partir de succinil-CoA y glicina ocurre sólo cuando la disponibilidad de hierro libre señala el potencial de síntesis de hem. La regulación se dirige a la primera enzima de la vía, la δ-aminolevulinato sintasa (ALA sintasa, *ε-aminolevulinate synthase*) en lugar de una reacción posterior. Esto conserva la energía al evitar el derroche de una coenzima A tioéster.

Sección VII. Estructura, función y replicación de macromoléculas informativas

1. **D.** Los trifosfatos de pirimidina β, γ metileno y β, γ-imino purina no liberan fácilmente el fosfato terminal por hidrólisis o por transferencia de grupo fosforilo.
2. **D.**
3. **E.** La pseudouridina se excreta sin cambios en la orina humana. Su presencia allí no es indicativa de patología.
4. **A.** Los trastornos metabólicos se asocian con poca frecuencia con defectos en el catabolismo de la pirimidina, que forma productos solubles en agua.

5. **B.**	21. **C.**	37. **C.**	53. **D.**
6. **D.**	22. **A.**	38. **E.**	54. **A.**
7. **B.**	23. **C.**	39. **D.**	55. **E.**
8. **C.**	24. **A.**	40. **D.**	56. **A.**
9. **C.**	25. **E.**	41. **B.**	57. **E.**
10. **D.**	26. **B.**	42. **A.**	58. **C.**
11. **E.**	27. **A.**	43. **A.**	59. **A.**
12. **B.**	28. **E.**	44. **E.**	60. **D.**
13. **D.**	29. **C.**	45. **C.**	61. **D.**
14. **D.**	30. **A.**	46. **A.**	62. **E.**
15. **E.**	31. **A.**	47. **C.**	63. **A.**
16. **A.**	32. **C.**	48. **D.**	64. **C.**
17. **C.**	33. **D.**	49. **C.**	65. **C.**
18. **B.**	34. **E.**	50. **B.**	66. **E.**
19. **D.**	35. **C.**	51. **E.**	67. **D.**
20. **B.**	36. **B.**	52. **C.**	

Sección VIII. Bioquímica de la comunicación extracelular e intracelular

1. **B.** Los glucolípidos están ubicados en la valva externa.
2. **A.** Las alfa-hélices son los principales constituyentes de las proteínas de membrana.
3. **E.** La insulina también aumenta la absorción de glucosa en el músculo.

4. **A.** Su acción mantiene la alta concentración intracelular de potasio en comparación con el sodio.

5. **D.**	10. **A.**	15. **B.**	20. **B.**
6. **B.**	11. **E.**	16. **C.**	21. **D.**
7. **C.**	12. **B.**	17. **A.**	22. **A.**
8. **B.**	13. **D.**	18. **C.**	
9. **D.**	14. **E.**	19. **A.**	

Sección IX. Temas especiales (A)

1. **A.**	16. **A.**	31. **E.**	46. **B.**
2. **E.**	17. **B.**	32. **A.**	47. **B.**
3. **C.**	18. **C.**	33. **B.**	48. **B.**
4. **D.**	19. **E.**	34. **A.**	49. **B.**
5. **E.**	20. **D.**	35. **B.**	50. **C.**
6. **D.**	21. **E.**	36. **C.**	51. **D.**
7. **C.**	22. **A.**	37. **D.**	52. **C.**
8. **B.**	23. **C.**	38. **E.**	53. **A.**
9. **D.**	24. **C.**	39. **E.**	54. **A.**
10. **E.**	25. **A.**	40. **A.**	55. **A.**
11. **C.**	26. **E.**	41. **D.**	56. **E.**
12. **B.**	27. **A.**	42. **C.**	57. **A.**
13. **C.**	28. **A.**	43. **B.**	
14. **D.**	29. **A.**	44. **E.**	
15. **B.**	30. **C.**	45. **C.**	

Sección X. Temas especiales (B)

1. En el cuerpo, la hidrólisis de la nitroglicerina libera iones de nitrato que pueden ser reducidos por la aldehído deshidrogenasa mitocondrial para generar óxido nítrico (NO, *nitric oxide*), un potente vasodilatador.
2. El ciclo contráctil del músculo cardiaco está controlado por oscilaciones en el nivel de Ca^{2+} citosólico. Si la reabsorción de Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico se enlentece suficientemente por una actividad deficiencia de SERCA2a, los miocitos cardiacos no podrán despejar este segundo mensajero de su citoplasma antes del inicio del siguiente ciclo de excitación. La persistencia de altos niveles basales de Ca^{2+} citosólico conducirá tanto a una reducción en la amplitud del ciclo contráctil como a un desacoplamiento progresivo del ciclo de excitación-contracción.

3. **A.**	5. **B.**	7. **E.**	9. **E.**
4. **A.**	6. **B.**	8. **D.**	

10. La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular, formando un complejo que es demasiado grande para pasar a través del glomérulo hacia los túbulos renales.
11. La producción de nuevos anticuerpos con propiedades únicas de unión a antígeno depende de la recombinación y mutación del DNA que codifica las regiones hipervariables de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina. La citidina desaminasa introduce mutaciones genéticas al catalizar la hidrólisis de las bases de citosina presentes en el DNA del uracilo.

12. **B.**	14. **C.**	16. **E.**
13. **C.**	15. **B.**	17. **E.**

18. Los eritrocitos deficientes en glucosa-6-fosfato se vuelven extremadamente vulnerables a la destrucción por las especies reactivas del oxígeno que resultan de la falta de glutatión reducido, un agente importante para proteger contra el estrés oxidativo. Esto es una consecuencia de su dependencia de esta enzima para generar un suministro abundante de NADPH utilizado por la glutatión reductasa.

19. **E.**	21. **D.**	23. **D.**	25. **B.**
20. **C.**	22. **A.**	24. **D.**	26. **A.**

27. **E.** Las importinas están involucradas en la importación de proteínas en el núcleo.
28. **B.** Se sabe que algunas proteínas de mamífero se translocan después de la traducción.
29. **C.** La ubiquitina etiqueta proteínas para degradación por los proteasomas.
30. **E.** La furina convierte la proalbúmina en albúmina.
31. **C.** La NSF es ATPasa.
32. **D.** Los enlaces cruzados son una característica importante de la estructura del colágeno.
33. **C.** Las deleciones en el gen de la elastina se han identificado como responsables de muchos casos del síndrome de Williams-Beuren.
34. **B.** Los subtipos de síndrome de Ehlers-Danlos cifoescoliosis y dermatosparaxis son causados por defectos en genes no colágenos.
35. **B.** El ácido hialurónico (hialuronano) no está sulfatado.
36. **C.** El síndrome de Hurler es causado por una deficiencia de α-l-iduronidasa.
37. **D.** La acondroplasia es causada por mutaciones en el gen *FGFR3*.

Sección XI. Temas especiales (C)

1. **D.**
2. **D.** De las proteínas enumeradas, sólo el factor II es un factor de coagulación dependiente de vitamina K.
3. **D.**
4. **E.** GPIIb-IIIa (integrina αIIbb3) no es un receptor acoplado a proteína G.
5. **A.** La hemofilia A, al ser la enfermedad relacionada con el chromosoma X, es muy poco probable que ocurra en una mujer.
6. **B.** La mayoría de los carcinógenos químicos interactúan covalentemente con el DNA.
7. **B.** Ciertos virus de DNA también son conocidos por ser cancerígenos.
8. **E.** Se cree que las mutaciones en aproximadamente 5 a 6 de estos dos tipos de genes supresores o promotores del cáncer son necesarias para la carcinogénesis.
9. **E.** PDGF estimula la fosfolipasa C, no la fosfolipasa A.
10. **D.** La unión de RB a E2F bloquea la progresión de la célula de la fase G1 a la fase S.
11. **C.** La inestabilidad de los microsatélites es causada por anomalías en la reparación del desajuste.
12. **E.** El dicloroacetato inhibe la piruvato deshidrogenasa cinasa.
13. **D.** La angiogenina es un inhibidor de la angiogénesis.
14. **B.** El citocromo C se libera de las mitocondrias.
15. **E.** Sólo alrededor de 1 en 10 000 cánceres puede tener la capacidad de colonizar.
16. **B.**
17. **D.**
18. **D.**
19. **C.**
20. **B.**

Índice

Nota: Los números de página seguidos por *f* indican figuras, y los números de página seguidos por *c* indican cuadros.

1,25-dihidroxivitamina D, 530-531, 531*f*
1,2-diacilglicerol (DAG), en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
1,3-bisfosfoglicerato, en la glucólisis, 159, 159*f*, 160*f*
1,4,5, trifosfato de inositol (IP_3)
  en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
  en la quimiotaxis, 658
1,6-glucosidasa, en la glucogenólisis, 166, 166*f*
15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa, 224-225
17α-hidroxilasa, 486, 488*f*
18-hidroxilasa, 485-486
19-hidroxiesteroide, 485
1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa, 230, 231*f*
1-fluoro-2,4-dinitrobenceno, 27
2- desoxi-D-ribosa, 320
2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG), 648
  unión a hemoglobina de 50*f*, 53, 53*f*
2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa, 161, 161*f*
2,3-bisfosfoglicerato sintasa/2-fosfatasa (BPGM), 53
2,3-BPG. *Véase* 2,3-bisfosfoglicerato
2,4 dinitrofenol, 123
26S, proteasoma, 84
27-hidroxilasa, esterol, 255, 256*f*
2-desoxi-D-glucosa, 696, 698*c*
2-fosfoglicerato, en glucólisis, 159, 159*f*
2-monoacilgliceroles, 231*f*
3′,5′-nucleótido cíclico fosfodiesterasa, en la lipólisis, 246
3′,5′-cAMP, como segundo mensajero, 86
3-bromopiruvato, 696, 698*c*
3-cetoacil reductasa, 219*f*
3-cetoacil sintasa, 217, 219*f*
3-desoxiuridina, 324
3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS), 322-323, 323*f*, 324*c*, 558, 600
3-fosfoglicerato deshidrogenasa, en la regulación alostérica, 85
3-fosfoglicerato, en glucólisis, 159, 159*f*
3-hidroxi-3- metilglutaril-CoA (HMG-CoA)
  en cetogénesis, 211, 212*f*
  en la síntesis de colesterol, 250, 251*f*
  en la síntesis de mevalonato, 250, 251*f*
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) liasa
  deficiencia, 215
  en la cetogénesis, 211, 212*f*
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa
  como objetivo fármacológico, 84
  en la síntesis de mevalonato, 250, 250*f*
  regulación de, 86, 89*c*
  síntesis del colesterol controlada por, 250, 251*f*, 252-253, 253*f*
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa quinasa, regulación de, 89*c*
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) sintasa
  en cetogénesis, 211, 212*f*
  en la síntesis de colesterol, 250, 251*f*
  en la síntesis de mevalonato, 250, 250*f*
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa regulación de, 90
3-hidroxiantranilato dioxigenasa, 115
3-metilhistidina, 298
48S complejo de iniciación, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*, 401
4-hidroxiprolina deshidrogenasa, 285-286, 285*f*
4-hidroxiprolina, 17, 17*f*
5- metilcitosina, 321, 323*f*
5- o 6-azacitidina, 324
5- o 6-azauridina, 324, 324*f*, 336
5-azadesoxicitidina, 690
5-fluorouracilo, 80, 324, 324*f*, 334, 336*c*
5-hidroxilisina, 17, 17*f*
5-hidroximetilcitosina, 321, 323*f*
5-lipoxigenasa, 225, 227, 227*f*
5-yodo-2′-desoxiuridina, 324*f*
5-yodouracilo, 324
5α-reductasa, 487, 489*f*
6-fosfogluconato deshidrogenasa, 183*f*, 184, 184*f*
6-fosfogluconolactona, 183-184, 183*f*, 184*f*
6-mercaptopurina, 324*f*, 325, 329*f*, 330
6-tioguanina, 324, 324*f*
7-deshidrocolesterol, 530, 531*f*
7-metilguanina, 323f
7α-hidroxilasa, esterol, 255, 256*f*
80S complejo de iniciación, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*, 401
8-azaguanina, 324, 324*f*

A
ABCA1 (transportador de casete A1 dependiente de ATP), 241*f*, 242
ABCG1 (transportador de casete G1 dependiente de ATP), 241*f*, 242
abciximab 672
abetalipoproteinemia 239, 258*c*
absorción
  de carbohidratos, 520, 520*f*
  de lípidos, 520-521, 522*f*
  de proteínas, 521, 523
  de vitamina B_{12}, 101, 536
  de vitaminas y minerales, 523-524, 523*f*
  importancia biomédica de, 519
ACAT (acil-CoA: colesterol aciltransferasa), 253
ACE (enzima convertidora de angiotensina), 495
aceites, 196
aceruloplasminemia, 633
acetato de celulosa en electroforesis de zona, 628, 629*f*
acetilación
  de histonas, 351, 353*c*
  de xenobióticos, 558-559
  detección por espectrometría de masas de, 28*c*
  regulación de la enzima por, 86-89
acetil-CoA
  conversión de tirosina a, 286, 287*f*
  conversión de treonina a, 285, 285*f*
  en el ciclo del ácido cítrico, 150-151, 151*f*, 152*f*, 154-155, 155*f*
  en el metabolismo xenobiótico, 559
  en la formación de VLDL, 243, 243*f*
  en la lipogénesis, 217-219, 219*f*, 220*f*, 221
  en la regulación de glucólisis y gluconeogénesis, 175
  en las vías metabólicas, 130-131, 130*f*, 131*f*, 136
  formación de fenilalanina de, 286, 288*f*
  oxidación de piruvato a, 161-163, 162*f*
  síntesis de colesterol a partir de, 250, 250*f*, 252*f*
acetil-CoA carboxilasa
  en lipogénesis, 217, 217*f*, 219*f*, 221-222, 221*f*
  regulación de, 89*c*, 90
acetilcolina, sinaptobrevina y 587
acetilo (acilo)-enzima malonil, en lipogénesis, 217, 218*f*, 219*f*
acetiltransferasas, 89, 559
acetoacetato, 207, 210, 211*f*
acetoacetil-CoA
  en la cetogénesis, 211, 212*f*
  en la síntesis de mevalonato, 250, 250*f*
acetona, 207, 210, 211*f*
acidemia isovalérica, 290, 293
acidez, 6
ácido acético, 13*c*, 197*c*
ácido acetilsalicílico. *Véase* aspirina
ácido araquidónico/araquidonato, 197*c*, 199*f*
  esencial en la nutrición, 222-223, 222*f*
  formación de eicosanoides y, 224, 225*f*, 226*f*, 227*f*
  para la deficiencia de ácidos grasos esenciales, 224
ácido ascórbico. *Véase* vitamina C
ácido aspártico, 16*c*
  efectos de pH en, 19, 19*f*
ácido butírico, 197*c*, 210
ácido caproico, 197*c*
ácido carbónico
  conversión de dióxido de carbono a, 52, 53*f*
pK_a de, 13*c*
ácido cervónico, 197*c*
ácido cítrico, 13*c*
ácido cólico, 255, 256*f*
ácido conjugado, 11

ácido desoxicólico, síntesis de, 255
ácido desoxirribonucleico. *Véase* DNA
ácido dihidroorótico, 333*f*
ácido docosahexaenoico (DHA), 199, 224
ácido eicosapentaenoico (EPA), 199, 222*f*, 224
ácido elaidico, 197*c*, 198, 198*f*
ácido esteárico, 197*c*
ácido fitánico, enfermedad Refsum causada por la acumulación de, 215
ácido fítico, 523
ácido fólico
  coenzimas derivadas de, 58
  deficiencia de, 282, 526*c*, 538
  estructura del, 537, 537*f*
  funciones del, 528*c*, 537, 537*f*
  inhibición de, 537
  suplementos de, 538
  toxicidad de, 538
ácido fosfatídico, 199, 200*f*, 461, 461*f*
ácido fosfórico, pK_a de, 13*c*
ácido glucocólico, 256*f*
ácido glucoquenodesoxicólico, 256*f*
ácido glucurónico, formación de la vía del ácido urónico, 182
ácido glutámico, 16*c*
ácido glutárico, pK_a de, 13*c*
ácido graso oxidasa, 209, 209*f*
ácido graso sintetasa, 75
ácido hialurónico, 147, 148*f*, 599, 601, 601*f*, 602*c*, 608, 608*f*, 609*f*
ácido hipúrico, conversión de glicina a, 298, 298*f*
ácido láctico, pK_a de, 13*c*
ácido láurico, 197*c*
ácido linoleico/linoleato, 196*f*, 197*c*
  en la deficiencia de ácidos grasos esenciales, 224
  nutricionalmente esencial, 222, 222*f*
  oxidación de, 211*f*
  síntesis de, 222-223, 223*f*
ácido litocólico, síntesis de, 255, 256*f*
ácido micofenólico, 329*f*, 330
ácido mirístico, 197*c*
ácido N-acetilneuramínico (NeuAc), 547, 548*c*
ácido N-acetilneuramínico, en gangliósidos, 234, 234*f*
ácido neuramínico, 147, 202
ácido nicotínico, 534
  como fármaco hipolipidémico, 257
ácido oleico, 196, 196*f*, 197*c*, 198*f*
  nutricionalmente esencial, 222, 222*f*
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácido orótico, 243, 244, 333*f*
ácido orotidílico descarboxilasa, 336*c*
ácido palmítico, 196*f*, 197*c*
ácido palmitoleico, 197*c*, 222, 222*f*
ácido pantoténico, 217
  coenzimas derivadas de, 58, 539
  deficiencia de, 528*c*
  funciones de, 528*c*, 539, 539*f*
  necesidad del ciclo del ácido cítrico, 153
ácido prostático fosfatasa, uso diagnóstico de, 64
ácido quenodesoxicólico, 255-256, 256*f*
ácido retinoico, 529-530, 529*f*
ácido ribonucleico. *Véase* RNA
ácido succínico, pK_a de, 13*c*
ácido taurocólico, 256*f*
ácido tauroquenodesoxicólico, 256*f*
ácido timodónico, 197*c*
ácido úrico, 321, 323*f*
  catabolismo de purina, 334, 335f
  efectos de fructosa en, 189-190
  excreción de nitrógeno como, 272
ácido urónico, 599
ácido valérico, 197*c*
ácido valproico, 690
ácido α,γ-diaminobutírico, 18, 18*c*
ácido α-linolénico (ALA), 197*c*, 199
  nutricionalmente esencial, 222, 222*f*
  para deficiencia del ácido graso esencial, 224
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácido β-*N*-oxalil-L-α-β-diaminopropiónico (β-ODAP), 18, 18*c*
ácido γ-carboxiglutámico, 17, 17*f*
ácido γ-linolénico, 197*c*, 223
ácidos
  como donantes de protones, 10
  como especies protonadas, 11
  conjugados, 11
  débil. *Véase* ácidos débiles
  fuerte, 10-11
  fuerza de, 13, 13*c*
  metales de transición como, 93
ácidos anhídridos, grupo potencial de transferencia para, 324
ácidos apróticos, 93
ácidos biliares (sales), 202, 249, 255-256, 255*f*
ácidos débiles
  acciones de taponamiento de, 12-13, 12*f*
  aminoácidos como, 18-20, 19*f*, 20*c*
  como función al grupo, 11-12
  disociación de, 10-12
  ecuación Henderson-Hasselbalch que describe el comportamiento de, 12, 12*f*
  efectos de estructura molecular en, 13, 13*c*
  pK_a de, 11-13, 12*f*, 13*c*, 19
  propiedades medias que afectan, 13
ácidos fuertes, disociación de, 10-11
ácidos grasos
  absorción de, 521
  activación de, 208, 208*f*
  antiinflamatorio, 199
  como combustible metabólico, 130, 136
  de cadena larga ω3, 196, 199
  eicosanoides formados a partir de, 224, 225*f*
  en membranas, 461, 461*f*
  esenciales. *Véase* ácidos grasos esenciales
  insaturados. *Véase* ácidos grasos insaturados
  libres. *Véase* ácidos grasos libres
  monoinsaturados. *Véase* ácidos grasos monoinsaturados
  nomenclatura de, 196, 196*f*
  oxidación de. *Véase también* cetogénesis.
  aspectos clínicos de, 214-215
  deterioro de, 214-215
  hipoglucemia causada por deterioro de, 214-215
  importancia biomédica de, 207
  liberación de acetil-CoA y, 208-210, 208*f*, 209*f*, 210*c*
  para mantenimiento de la salud, 3
  poliinsaturados. *Véase* ácidos grasos poliinsaturados
  propiedades físicas/fisiológicas de, 198-199
  saturados, 196, 196*f*, 197, 197*c*. *Véase también* ácidos grasos saturados
  trans, 198, 226
  transporte de, carnitina en, 208, 208*f*
  triacilgliceroles como forma de almacenamiento de 199, 199*f*
  vías metabólicas de, 130-131, 130*f*, 131*f*
  a nivel tisular y orgánico, 132-133, 133*f*
  en alimentación, 137-138, 137*f*, 138*c*
  en ayuno, 138, 138*c*
ácidos grasos esenciales (EFA), 196, 216
  deficiencia de, 224-225
  efectos fisiológicos de, 224
  metabolismo anormal de, 226
  poliinsaturados, 222, 222*f*
  producción de prostaglandinas y, 224
ácidos grasos insaturados, 196, 196*f*, 197-198, 197*c*
  dieta, niveles de colesterol afectados por, 257
  eicosanoides formados a partir de, 216, 224, 225*f*, 226*f*
  en membranas, 461-462, 461*f*, 462*f*
  enlaces dobles cis en, 198, 198*f*
  esencial, 222, 222*f*
  estructuras de, 222*f*
  oxidación de, 210, 211*f*síntesis de, 223-224, 223*f*
ácidos grasos libres (FFA), 196, 207-208
  en la formación de VLDL, 243, 243*f*
  en lipoproteínas, 237, 237*c*
  hígado graso, 244
  insulina y, 236, 245
  lipogénesis afectada por, 220, 221*f*
  metabolismo de la glucosa y, 245
  metabolismo de, 238
  movilización de lípidos y, 236
  regulación de la cetogénesis y, 213-214, 213*f*, 214*f*
  tejido adiposo y, 244
ácidos grasos monoinsaturados, 197, 197*c*
  dietéticos, niveles de colesterol afectados, 257
  síntesis de, 223, 223*f*
ácidos grasos no esterificados. *Véase* ácidos grasos libres
ácidos grasos no esterificados. *Véase* ácidos grasos libres
ácidos grasos nutricionalmente esenciales, 222, 222*f*
  deficiencia de, 224, 225
  metabolismo anormal de, 226
ácidos grasos poliinsaturados, 196*f*, 197, 197*c*
  dietéticos, niveles de colesterol afectados por, 257
  eicosanoides formados a partir de, 224, 225*f*
  esenciales, 222, 222*f*
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácidos grasos saturados, 196, 196*f*, 197, 197*c*
  en membranas, 461-462, 461*f*
ácidos grasos trans, 198, 226, 462
ácidos grasos ω3
  de cadena larga, 196, 199
  secreción de VLDL y, 243
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácidos grasos ω3 de cadena larga, 196, 199
ácidos grasos ω6, 196, 199
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácidos grasos ω9, 196
  síntesis de, 223-224, 223*f*
ácidos Lewis, metales de transición como, 93
ácidos nucleicos

digestión con nucleasas, 348
importancia biomédica de, 338
ácidos próticos, 93
ácidos siálicos, 147, 148*f*, 148*c*, 202
en gangliósidos, 234, 234*f*
síntesis de, 188, 190*f*
ácidos urónicos, en glucosaminoglicanos, 147
acidosis
en células cancerosas, 696
funciones del amonio en, 275
acidosis láctica, 118, 157, 163
deficiencia de vitamina B_1 en, 534
acidosis metabólica, papel del amoniaco en, 275
acidoterapia orótica, 336, 336*c*
aciduria
dicarboxílica, 215
orótica, 336, 336*c*
aciduria 4 hidroxibutírica, 303
aciduria dicarboxílica, 215
aciduria metilmalónica, 174, 174*f*
aciduria β-hidroxibutírica, 327, 335-336, 337*f*
acilcarnitina, 208, 208*f*
acil-CoA
en la síntesis de triacilglicerol, 230
formación de, 208, 208*f*
regulación de piruvato deshidrogenasa por, 221
acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, deficiencia de, 215
acil-CoA deshidrogenasa, 114
cadena media, deficiencia de, 215
en la oxidación de ácidos grasos, 209, 209*f*
acil-CoA sintetasa (tioquinasa)
compartimentación mitocondrial de, 118
en la activación de ácidos grasos, 208, 208*f*
en la síntesis del triacilglicerol, 230, 244, 245*f*
acil-CoA: colesterol aciltransferasa (ACAT), 253
acilgliceroles, 196
importancia biomédica de, 229
síntesis de, 230-233, 230*f*, 231*f*
acondroplasia, 478*c*, 609
aconitasa, en el ciclo del ácido cítrico, 151, 152*f*
acoplamiento
de la oxidación y la fosforilación en la cadena respiratoria, 122-123, 123*c*
de reacciones endergónicos y exergónicos, 106-107, 106*f*, 107*f*, 109
acoplamiento de excitación-respuesta, 459
acoplamiento receptor-efector, 482
acoplamiento, en la clasificación de proteínas, 578, 586-587
ACP. *Véase* acilo portador de proteína
actina, 611
actina F, 613, 614*f*
actina G, 613, 614*f*, 623-624
en contracción muscular, 613-615, 614*f*, 615*f*
en glóbulos rojos, 652*c*, 653
regulación del músculo estriado mediante, 616
activación inducida citidina desaminasa, 641
activador del plasminógeno tisular (tPA), 64, 678*f*, 679
activadores
en la expresión génica, 410-411
transcripción, 384-385
activadores de plasminógeno, en hemostasia y trombosis, 672
actividad de histona acetiltransferasa (HAT), 513-514
actividad equivalente de retinol, 529
actividad específica, 75
actividad física
deuda de oxígeno después, 160
requisitos de energía de, 524
actividad óptica, 142
actomiosina, 614
acuaporinas, 472
AD (dominios de activación), 381, 427, 428*f*, 512
Ad genomas (adenovirales), 437
adaptaciones fisiológicas a, altitud, 53
adaptaciones homeostáticas, 500
adenilil ciclasa, 167, 168*f*, 169*f*
cAMP señal intracelular y, 503-504, 503*c*
en la lipólisis, 246, 246*f*
adenilil quinasa (mioquinasa), 109, 176
compartimentación mitocondrial de, 118
en la contracción muscular, 621
adenina, 322*c*
emparejamiento de bases en DNA, 339, 340*f*
emparejamiento de bases en RNA, 342, 343*f*
vías de rescate de, 332-333
adenocarcinoma, colorrectal, 687-688, 688*f*, 688*c*
adenosina
derivados de, 322*c*
en la formación de ácido úrico, 334, 335*f*
en *S*-adenosilmetionina, 323*f*
syn y *anti*confórmeros de, 321*f*
adenosina desaminasa
deficiencia de, 327, 335, 335*f*, 336*c*, 432, 655
localización del gen de, 442*c*
adhesión celular, en glucoesfingolípidos, 234
adhesión, papel de la glucoproteína en, 553-554
adipocitos, 247
renovación de, 708*c*
adiponectina, 244
adipoquinas, 244
ADP. *Véase* difosfato de adenosina
ADPasa, en hemostasia y trombosis, 672
adrenalina. *Véase también* catecolaminas
conversión de tirosina a, 300, 302*f*
en glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 175
en regulación de lipogénesis, 221, 222*f*
regulación de glucógeno por, 167-168, 169*f*
regulación de glucosa en sangre por, 180
síntesis de, 484*f*, 491*f*, 492
adrenoleucodistrofia neonatal, 580, 580*c*
aductos, 710
agammaglobulinemia, 645
agentes agregantes, en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
agentes anticancerígenos. *Véase* fármacos quimioterapéuticos
AGE (productos finales de glicación avanzada), 553, 553*f*, 712-713
aglicona, 145
agrecano, 608, 608*c*, 609*f*
agregación plaquetaria, 670, 671*f*
pruebas de laboratorio que miden, 679
agregados de proteínas, efectos tóxicos de, 715
agregantes, proteína, 41
agua
coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
como disolvente biológico, 6-7, 7*f*
como nucleófilos, 8-10
compartimentalización del cuerpo de, 460, 460*c*
disociación de, 9-10
formación de dipolos, mediante, 6-7, 7*f*
geometría tetraédrica de, 6, 7*f*
importancia biomédica de, 6
interacciones de biomoléculas con, 7-8, 7*c*, 8*f*
iones de hidrógeno en, 9-13, 12*f*, 13*c*
para mantenimiento de la salud, 3
pH de, 10
producción de cadena respiratoria de, 120-121
puentes de hidrógeno de, 7, 7*f*
reacciones de hidrólisis de, 9
AHSP (proteína estabilizadora de α-hemoglobina), 42
AIDS
desnutrición en, 525
rol del glicano en, 555
aisladores eléctricos
hojas de mielina, 473
lípidos no polares como, 196
aislantes
en la expresión génica, 424-425
lípidos no polares como, 196
AKAP (proteínas de anclaje de una quinasa), 505
ALA. *Véase* δ-aminolevulinato; ácido α-linoleico
alanina aminotransferasa (ALT)
reacción de transaminación de, 273, 273*f*
uso diagnóstico de, 64, 64*c*, 566
alanina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 283
niveles circulantes en plasma de, 271-272, 271*f*, 272*f*
vías metabólicas de, 138
productos especializados de, 296-297
síntesis de, 265, 265*f*
formando reacciones de transaminación, 272-273, 273*f*
albúmina, 599, 627, 628, 630, 631
ácidos grasos libres en combinación con, 208, 236, 237*c*, 238
síntesis de, 588, 588*f*
unión de bilirrubina a, 311, 315
albuminuria, 599
alcalosis metabólica, efectos del amoniaco en, 275
alcalosis, efectos del amoniaco en, 275
alcaptonuria, 286, 287*f*
alcohol deshidrogenasa en hígado graso, 244
alcoholes
absorción de hierro y, 523-524
carbohidratos como derivados de aldehído o de cetona, 141-142, 142*c*
enlace de hidrógeno de, 7, 7*f*
rendimientos de energía a partir de, 138*c*
sulfatación de, 558
alcoholes polihidroxilados, carbohidratos como derivados de aldehído o de cetona, 141-142, 142*c*
alcoholismo
caso de estudio, 720
cirrosis y, 244
glucosilación de transferrina en, 633
ALD (hepatopatía alcohólica), 244
aldehído deshidrogenasa, 112
en hígado graso, 244
aldehído oxidasa, molibdeno en, 100

aldolasa
deficiencia de, 163
en glucólisis, 159, 159*f*
aldolasa B, 186, 188*f*
deficiencia de, 190
aldosa reductasa, 191
aldosas, 141-142, 142*c*, 143, 144*f*
aldosterona sintasa, 485-486
Alisporivir, 42
almidón, 145, 147*f*
hidrólisis de, 520
alopurinol, 324, 324*f*, 334, 336
alquilfosfolípido, 229
ALT. *Véase* alanina aminotransferasa
alta secuencia de rendimiento (HTS), 62-63, 445-446
alteplasa, 679
altitud elevada, adaptaciones fisiológicas a, 53
ambiente extracelular, membranas en mantenimiento de, 460, 460*c*
ambiente intracelular, membranas en mantenimiento de, 460, 460*c*
ambigüedad y código genético, 394
amilasa
hidrólisis del almidón por, 520
uso de diagnóstico de, 64*c*
amiloide, 715
amiloidosis familiar, 639
amiloidosis, 639, 639*c*
amilopectina, 145, 147*f*
amilosa, 145, 147*f*
amino azúcares, 145, 145*f*
síntesis de, 188, 190*f*
aminoácidos
asociación de tRNA con, 395-396, 395*f*, 396*f*
codones de sentido erróneo y, 397, 398*f*
hidrólisis de enlaces peptídicos, 708-709, 709*f*
mutaciones de sentido erróneo y, 396-397, 397*f*
sistemas trasportador/portador para, 468
aminoácidos cetogénicos, 136
aminoácidos de cadena ramificada, catabolismo de esqueleto de carbono de, 288, 290, 292*f*, 293, 293*f*, 293*c*
aminoácidos esenciales, 14, 131, 264, 264*c*, 526
aminoácidos glucogénicos, 136, 272, 272*f*
aminoácidos indispensables. *Véase* aminoácidos esenciales
aminoácidos no esenciales, 131, 264, 264*c*, 526
aminoácidos oxidasas, 112, 273-274, 274*f*
aminoácidos prescindibles, 131
aminoacil-tRNA en la síntesis de proteínas, 395, 395*f*, 402, 403*f*
aminoacil-tRNA sintetasas, 395, 395*f*
aminoadipato-δ-semialdehído sintasa, 286, 288*f*
aminofosfolípidos, asimetría de membrana y, 464
aminopeptidasas, 521
aminopirina, ácido urónico y efectos de la vía, 189
aminoproteinasa de procolágeno, 594
aminotransferasas, 154, 265, 265*f*
amobarbital, 118, 123
amoniaco
ciclo de ácido cítrico y, 150, 156
en trastornos del ciclo de la urea, 276-278, 277*c*
excreción de nitrógeno como, 272
intoxicación con, 273-274
por degradación de aminoácidos, 269, 272-275, 274*f*
AMP. *Véase* monofosfato de adenosina
AMP cíclico (cAMP), 322, 323*f*, 324*c*
adenilil ciclasa y, 503-504, 503*c*
como segundo mensajero, 482, 483*c*, 502
en contracción muscular, 619
en hemostasis y trombosis, 672
en modelo de operón, 414
formación e hidrólisis de, 167, 168*f*
fosfodiesterasas y, 505
fosfoproteína fosfatasas y, 505-506
fosfoproteínas y, 505
proteínas quinasas y, 504-505, 505*f*
regulación de glucógeno por, 166-170, 168*f*, 169*f*, 170*f*, 171*f*
AMPK (proteína quinasa AMP-activada), 253, 253*f*
AMPK quinasa (AMPKK), 253, 253*f*
Amplificación
en cáncer, 685
en la formación de coágulos de fibrina, 677
amplificación génica, en cáncer, 685
ampollas, 625
AMP- quinasa de proteína AMP-activada (AMPK), 253, 253*f*
anabolismo, 106
anafilaxia, sustancia de reacción lenta de, 227
analbuminemia, 630
análisis de enzimas acopladas, 63, 63*f*
análisis de orina, 566
análisis de pedigrí para la enfermedad de células falciformes, 443-444, 444*f*
análisis enzimático sérico, 63-64, 64*c*, 65*f*
análisis enzimáticos
acoplado, 63, 63*f*
detección de alto rendimiento, 62-63
en el desarrollo de fármacos, 80
espectrofotométricos, 63, 63*f*
inmunoensayos, 63
mediciones de velocidad inicial con, 73, 73*f*
una sola molécula, 62, 62*f*
utilizando diagnóstico clínico, 63-65, 64*c*, 65*f*, 564-565, 564*f*
analitos, 561
análogos de estado de transición, 59, 76
análogos de glutamina, síntesis de nucleótidos purina afectada por, 328, 330
anclaje, 586-587
andamios, 352*f*, 353
andrógenos
esteroidogénesis
ovárica, 487-489, 489*f*, 490*f*
testicular, 487, 488*f*
síntesis de, 486*f*, 487
androstenediona, 487, 488f
anemia de células falciformes, 650*c*
anemia Diamond-Blackfan, 649
anemia perniciosa, 536-537
anemia por deficiencia de hierro, 636, 637*c*, 650*c*
anemias hemolíticas, 157, 163, 182
alteración de la vía de la pentosa fosfato en, 188-189
causas de, 651, 651*f*
hiperbilirrubinemia con, 313, 315, 315*c*
anemias megaloblásticas, 538, 650*c*
anemias, 54
causas de, 646, 650*c*
de inflamación, 635
definición, 646
Diamond-Blackfan, 649
hemolítica. *Véase* anemias hemolíticas
megaloblástica, 538, 650*c*
perniciosa, 536-537
por deficiencia de hierro, 636, 637*c*, 650*c*
aneuploidía, en cáncer, 691-692, 692*f*
ANF (factor natriurético auricular), 482, 483*c*
angiogénesis, en cáncer, 696-698
angiotensina II, 495-496, 496*f*
angiotensinógeno, 495, 496*f*
ángulo phi, 34, 34*f*
ángulo psi, 34, 34*f*
anhidrasa carbónica (CA), 52, 53*f*, 648
anhidrasa carbónica II (CA II), 607
anillos de pirrol, de porfirinas, 305, 306*f*
animales amonotélicos, 272
animales transgénicos, 446
animales ureotélicos, 272
animales uricotélicos, 272
anómeros alfa, 143
anómeros beta, 143
anquirina, 652*c*, 653
anserina, 298, 298*f*, 303
antenas, de glucoproteínas, 550
anti Lepore, 359, 360*f*
antibióticos 321*f*
amino azúcares en, 145
aminoácidos en, 14
glucósidos, 145
inhibidores del metabolismo del folato como, 537
resistencia a, 80, 98, 99*f*
síntesis proteica bacteriana y, 406-407, 407*f*
anticoagulantes, mecanismo de, 677-678
anticonfórmeros, 320-321
anticuerpos monoclonales (mAbs), 642-643, 697-698, 702, 702*c*
anticuerpos, 627. *Véase también* Inmunoglobulinas
monoclonales, 642-643
antigenicidad, alteración xenobiótica de, 559
antígeno carcinoembrionario (CEA), 700
antígeno prostático específico (PSA), 700
antimicina A, 123
antioxidantes preventivos, 204
antioxidantes rompedores de cadena, 204
antioxidantes, 116
clases de, 204
importancia biomédica de, 541
mecanismos protectores de, 543-544, 544*f*
paradoja prooxidante de, 544-545, 544*c*
vitamina E como, 532
antipirina, efectos en la vía del ácido urónico, 189
antiproteinasas, 662
antitrombina, 627, 630*c*, 677
aparato de Golgi (GA)
brefeldina A y, 588
en la clasificación de proteínas, 574, 575*f*, 584
en la formación de VLDL, 239f
en la síntesis de membrana, 574
en la síntesis de proteínas, 405, 574
exocitosis en, 475
proteínas destinadas a la membrana de, 574, 581

señales de clasificación de proteínas en, 573, 574*c*
transporte retrógrado de, 582-584
emparejamiento de bases de Watson-Crick, 339, 340*f*
emparejamiento de bases en DNA, 339, 340*f*, 341
APC (proteína C activada), 677
apo A-I, 237*c*, 238
consumo de alcohol y, 257
deficiencias de, 258*c*
en metabolismo de HDL, 241*f*, 242
apo A-II, 237*c*, 238, 240
apo A-IV, 237*c*, 238
apo B-100, 237*c*, 238
en metabolismo de LDL, 240*f*, 241
regulación de, 253
apo B-48, 237*c*, 238
apo C-I, 237*c*, 238
apo C-II, 237*c*, 238, 240
apo C-III, 237*c*, 238, 240
apo D, 237*c*, 238
apo E, 237*c*, 238, 241
apolipoproteína E, en la enfermedad de Alzheimer, 42
apolipoproteínas/apoproteínas, distribución de, 237*c*, 238
apomioglobina, 49, 49*f*
apoptosis, 710
cardiolipina en, 230
ceramida en, 233
daño del DNA y, 371-372, 371*f*
evasión del cáncer de, 681-682, 692-694, 693*f*, 694*c*
fosfatidilcolinas en, 200
apoptosomas, 694, 712
aPTT. *Véase* tiempo parcial de tromboplastina activada
arabinosa, 144*f*, 144*c*
aracnodactilia contractual congénita, 597
archivo, 438
archivo de sondeo para, 438
archivo genómico, 438
archivo genómico para, 438
ARF-1 (factor 1 de ribosilación de ADP), 242, 243*f*
Arginasa
defectos en, 278
en la síntesis de urea, 275*f*, 276
arginina, 16*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 282, 283*f*
en síntesis, de urea, 275*f*, 276
híbridos de resonancia de, 18-19, 19*f*
productos especializados de, 297, 297*f*, 301, 302*f*
argininosuccinato liasa
defectos en, 277*c*, 278
en la síntesis de urea, 275*f*, 276
argininosuccinato sintetasa
defectos en, 277*c*, 278
en la síntesis de urea, 275*f*, 276
argininosuccinato, en la síntesis de urea, 275-276, 275*f*
arilaminas, sulfatación de, 558
ARS (secuencias que se replican de forma autónoma), 362
Arsénico
en la vía de la glucólisis, 159
toxicidad de, 93-94
arsenito, 153
artritis gotosa, 334, 336*c*
artritis reumatoide, 592
ácidos grasos ω3 y, 199
defectos de síntesis de glucoproteínas en, 554
artritis. *Véase también* osteoartritis
gota, 334, 336*c*
proteoglicanos en, 604
reumatoide. *Véase también* artritis reumatoide
ascorbato, 186
asialoglucoproteínas, 475
asimetría
de lípidos y proteínas en ensamblaje de membrana, 589, 589*f*
de membranas, 464
interior-exterior, 464
moléculas de Ran y, 578
asimetría interior-exterior, membrana, 464
asimetría transversal, 589
asma, leucotrienos en, 198
a-SNAP, 586c, 588
asparagina sintetasa, 265, 266*f*
asparagina, 16*c*
desaminación de, 274, 274*f*
en el catabolismo de esqueleto de carbono, 281-282
síntesis de, 265, 266*f*
asparaginasa, en el catabolismo de los aminoácidos, 274, 274*f*, 281-282
aspartato
catabolismo de esqueleto de carbono, 281-282
en el ciclo del ácido cítrico, 153, 154*f*
en la síntesis de urea, 275*f*, 276
síntesis de, 265, 265*f*
aspartato aminotransferasa (AST), uso diagnóstico de, 64, 566
aspartato transcarbamoilasa (ATCasa), 86
en la síntesis de pirimidina, 333*f*
aspirina (ácido acetilsalicílico)
ciclooxigenasa afectada por, 226
desarrollo de cáncer y, 700, 703
efectos antiplaquetarios de, 672
síntesis de prostaglandina afectada por, 216
AST (aspartato aminotransferasa), uso diagnóstico de, 64, 566
ataque nucleofílico, 364, 365*f*
ataxia-telangiectasia, mutado (ATM), 371, 371*f*
ATCasa (transcarbamoilasa de aspartato), 86
en la síntesis de pirimidina, 333*f*
aterosclerosis
ácidos grasos trans y, 226
colesterol y, 202, 250, 256-257
concentración plasmática de LDL y, 241, 257
daño por radicales libres que causan, 542
HDL y, 242, 257
lípidos y, 196, 198
lisofosfatidilcolina y, 201
prematura, 237, 241
productos finales de glicación avanzada en, 553
suplementos de ácido fólico para, 538
ATM (ataxia-telangiectasia mutado), 371, 371*f*
átomo de carbono anomérico, 143
atorvastatina, 257
ATP sintasa
compartimentación mitocondrial, 118
función motora rotatoria, 121, 122*f*
ATP. *Véase* trifosfato de adenosina
ATPasa, 472-473, 472*f*
chaperonas que muestran actividad de, 574
en osteoclastos, 605
ATP-citrato liasa, en lipogénesis, 218, 219*f*
ATR (quinasa relacionada con ATM), 371, 371*f*
atractilósido, 123, 124*f*
autoanticuerpos, 641
autoasociación, de moléculas hidrófobas en soluciones acuosas, 8
autoensamblaje
de bicapa lipídica, 462
de colágeno, 594
autoinmunidad, 641
ayuno, combustibles metabólicos en, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
azaserina, 328, 329*f*
azatioprina, 325, 325*f*
azúcar invertido, 145
azúcares, en lípidos anfipáticos, 462

B
bacitracina, 14
bacterias
ciclo de transcripción en, 377, 377*f*
glucanos en unión de, 555
reducción de bilirrubina por los intestinos, 313
síntesis de antibióticos y proteínas en, 406-407, 407*f*
transcripción en, 379-380, 380*f*
bacteriófago lambda
como paradigma de las interacciones proteína-DNA, 414-418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
en sitios de, 435
balance de energía, 105, 524-525, 524*f*
balance de nitrógeno, 269, 525-526
balance negativo de nitrógeno, 525
bamboleo, 396
BamHI, 433, 433*c*, 434*f*
banco de datos de proteínas, 38
banda A, 612, 612*f*, 613*f*
banda soret, 308, 310*f*
bandas H, 612, 612*f*, 613*f*
bandas I, 612, 612*f*, 613*f*
BAPN (γ-glutamil-β-aminopropionitrilo), 18, 18*c*
barbital, efectos en la vía del ácido urónico de, 189
barbitúricos, inhibición de la cadena respiratoria por, 118, 123
barriles β, 36, 37*f*
base conjugada, 11
bases
como aceptores de protones, 10
como especies no protonadas, 11
conjugadas, 11
débiles. *Véase* bases débiles
fuertes, 10-11
bases débiles
acciones de taponamiento de, 12-13, 12*f*
disociación de, 10-12
bases fuertes, disociación de 10-11
basófilos, 656-657, 662
BAT (tejido adiposo marrón), 123-124, 247, 247*f*
BAX, 693*f*, 694
BCL-2, en la apoptosis, 693*f*, 694
benzoato, metabolismo de, 298, 298*f*

BER (reparación de escisión de base), 369, 370*f*, 370*c*
beriberi, 534
BgIII, 433*c*
BHA (butil-hidroxianisol), 204
BHT (butil hidroxitolueno), 204
bicapa fosfolípidica, interacciones no covalentes en, 8
bicapa lipídica, 462-463, 462*f*
bicapa lipídica bimolecular, 462
bicapas, lípidos, 462-463, 462*f*
  grosor de, 589
  proteínas de membrana y, 463
bicarbonato en fluido extracelular e intracelular, 460*c*
bicarbonato, conversión de dióxido de carbono a, 52, 53*f*
bilirrubina
  conjugación de, 312, 312*f*, 313*f*
  del catabolismo del hemo, 311-313, 312*f*, 313*f*
  elevados niveles de, 305, 313-314, 313*c*
  estructura de, 311, 312*f*
  excreción de, 312-313, 313*f*
  medición sérica de, 313, 315, 315*c*, 566
  reducción de bacterias intestinales, 313
  transporte de, 311-312
  trastornos metabólicos de, 314-315, 314*f*, 315*c*
bilirrubina conjugada, 312, 312*f*, 313*f*
bilirrubina diglucurónido, 312, 312*f*
bilirrubina directa, 313
bilirrubina indirecta, 313
bilirrubina sérica, 313, 315, 315*c*, 566
bilirrubina total, 313
bilirrubina UDP-glucuronosiltransferasa, 312, 314
bilis, secreción de bilirrubina en, 312-313, 313*f*
biliverdina reductasa, 311, 312*f*
biliverdina, 311, 312*f*
bioenergéticos
  acoplamiento de reacciones endergónicas y exergónicas, 106-107, 106*f*, 107*f*, 109
  ATP como circulación de energía celular, 108-110, 108*f*, 109*f*, 121-122
  captura y transferencia de energía por fosfatos de alta energía, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
  energía libre en sistemas biológicos, 105-106
  importancia biomédica de, 105
bioética, 3
biofísica, 3
bioinformática, 3, 31
bioingeniería, 3
biología de células madre, 4, 446
biología del desarrollo, 717
biología molecular, secuenciación de proteínas y péptidos en, 28
biología sintética, 4
biomarcadores
  de riesgo cardiovascular, 567
  enzimas utilizadas como, 64, 65*f*
  tumor, 700-701, 701*c*
biomarcadores tumorales, 700-701, 701*c*
biopolímeros, síntesis enzimática de, 9
bioquímica clínica. *Véase* pruebas de laboratorio
bioquímica, 1-4, 2*f*, 3*f*
  clínica. *Véase* pruebas de laboratorio
biosíntesis de purina hepática
  AMP y regulación de la formación GMP en 331, 331*f*
  regulación de PRPP glutamil amidotransferasa en, 330
biotecnología, 3
biotina
  caso de estudio de, 724-725
  deficiencia de, 528*c*, 538
  en la síntesis de malonil-CoA, 217, 217*f*
  estructura de, 538, 538*f*
  funciones de, 528*c*, 539
BiP (proteína de unión a inmunoglobulina), 581, 582*f*
bisfosfoglicerato mutasa, 161, 161*f*
bleomicina, 14
BMP (proteínas morfogenéticas óseas), 635
BMR (tasa metabólica basal), 524
bolsa de Fabricio, 662
bolsas lipídicas, 200, 466, 466*f*, 588, 589
bomba de protones, acción de la cadena respiratoria como, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*
bomba de sodio-potasio (Na^+-K^+-ATPasa), 472-473, 472f, 473*f*
bombardeo atómico rápido (FAB), 29-30, 30*f*
bombas, 467, 467*f*, 473
borradores de código, 418
bp (pares de bases), 355
BPGM (2,3-bisfosfoglicerato sintasa/2-fosfatasa), 53
bradicinina, 674
brazo aceptor del tRNA, 346-347, 346*f*, 396, 396*f*
brazo adicional, de tRNA, 346*f*, 347
brazo D de tRNA, 346*f*, 347, 396, 396*f*
brazo de tRNA de ribotimidina pseudouridina citidina (TψC), 346*f*, 347, 396, 396*f*
brefeldina A, 243, 588
bucles antiparalelos, mRNA y tRNA, 396
bucles, en proteínas, 36, 37*f*
burbujas de replicación, 364, 366*f*, 367-368, 367*f*
butil-hidroxianisol (BHA), 204
butil hidroxitolueno (BHT), 204

C
C_{20} ácidos poliinsaturados, eicosanoides formados a partir de, 224, 225f, 226*f*
C2c2, 434*c*, 435
CA (anhidrasa carbónica), 52, 53*f*, 648
CA II (anhidrasa carbónica II), 607
Ca^{2+}. *Véase* calcio
Ca^{2+}/ fosforilasa quinasa sensible a calmodulina, activación de la glucogenólisis por, 168
CAD (caspasa-DNasa activada), 692
cadena de codificación
  en la replicación de DNA, 339, 344*f*
  en la síntesis de RNA, 375, 380*f*
cadena anterógrada, en la replicación del DNA, 362*f*, 363
cadena no codificante, 339, 344*f*
cadena respiratoria
cadena retrógrada, en la replicación del DNA, 362*f*, 363, 366*f*
cadenas antiparalelas, DNA, 339, 340
cadenas de ácidos grasos, elongación de, 220, 221*f*
cadenas de *N*-glicano, 581
cadenas ligeras de inmunoglobulina, 361, 639, 642
cadenas ligeras, inmunoglobulina, 361, 639, 642
cafeína, 321, 323*f*
  regulación hormonal de lipólisis y, 246
calbindina, 523
calcidiol, 531, 531*f*
calciferol. *Véase* vitamina D
calcinosis, 532
calcio (Ca^{2+})
  absorción de, 523
  activación de glucógeno fosforilasa por, 168
  como mediador de acción hormonal, 507
  como segundo mensajero, 86, 482, 483*c*, 502
  en contracción muscular, 611, 616-619, 617*f*, 617*c*, 618*f*
  en fluido intracelular, 460, 460*c*
  en hipertermia maligna, 618
  en la contracción del músculo cardiaco, 619-620, 620*f*, 620*c*
  en líquido extracelular, 460, 460*c*
  metabolismo de, 506
  metabolismo fosfatidilinositida y, 507-508, 507*f*, 508*f*
  regulación de vitamina D, 531
  regulación enzimática y proteica por, 506, 506*c*
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  retículo sarcoplásmico y, 618, 618*f*
calcitriol (1.25 $(OH)_2$-D_3), 530-531, 531*f*
  almacenamiento de, 497, 497*c*
  biosíntesis de, 489-491
cálculos biliares, 250, 519
  hiperbilirrubinemia causada por, 313*f*, 313*c*, 314
caldesmón, 617-618
calmodulina, 168, 506, 506*c*, 615, 617
calnexina, 551-552, 584
calor, producción en la cadena respiratoria, 123
calreticulina, 552, 584
calsequestrina, 618, 618*f*
cambio estándar de energía libre (ΔG0′)
  de hidrólisis ATP, 107-108, 107*c*, 108*f*
  en sistemas biológicos, 106
cambios de energía libre de Gibbs (ΔG), 69-70, 70*f*
  constante de equilibrio y, 69, 106
  de hidrólisis de ATP, 107-108, 107*c*, 108*f*
  efectos enzimáticos en, 72
  en sistemas biológicos, 105-106
  potencial redox y, 111-112, 112c
  regulación metabólica y, 83-84, 83*f*
cambios en el estilo de vida, niveles de colesterol afectados por, 257
cAMP. *Véase* AMP cíclico
CAM (moléculas de adhesión celular), 698, 700*c*
canal de conexona 476, 476*f*
canal K^+ de (KvAP), 471, 471*f*
canales activados por ligando, 470
canales regulados por voltaje, 470, 471, 471*f*, 618
canales conductores de proteínas, 580
canales controlados mecánicamente, 470
canales de agua, 472
canales de calcio en el músculo cardiaco, 619-620, 620*f*, 620*c*
canales de iones cerrados, 471, 471*f*
canales de iones de potasio (K^+), 470-471, 471*f*
canales de iones, 459, 468*c*
  canal de K^+, 471, 471*f*
  función de, 470, 470*f*
  impulsos nerviosos y, 473

mutaciones y, 478
propiedades de, 471*c*
selectividad de, 470
canales de voltaje K^+ (HvAP), 471, 471*f*
canales, en ciclo de ácido cítrico, 151
canales, hélices anfipáticas en, 36
canalopatías, 620, 620*c*
cáncer colorrectal
desarrollo de, 687-688, 688*f*, 688c
reparación de desajustes en, 370*c*
cáncer de colon hereditario no poliposo, 370*c*
cáncer de páncreas, hiperbilirrubinemia causada por, 313*f*, 313*c*, 314
cáncer hormonodependiente, vitamina B_6 y, 535
cáncer. *Véase también* quimioterapia
ácidos grasos ω3 y, 199
actividad de telomerasa en, 692
análisis genéticos de, 701
angiogénesis de 696-698
anormalidades del ciclo celular en, 691
apoptosis en, 681-682, 692-694, 693*f*, 694*c*
aspectos inmunológicos de, 698-700
biomarcadores de, 700-701, 701*c*
características celulares en 681, 682*f*
carcinogénesis en, 682-683, 688
causas de. *Véase* carcinogénesis
células madre en, 696
colorrectal, 370*c*, 687-688, 688*f*, 688*c*
daño genético en, 683
daños causados por radicales libres, 542
desnutrición en, 525
función del gen supresor tumoral en, 685-688, 685*c*, 686*f*, 687*f*, 687*c*, 688*f*, 688*c*
glucoproteínas en, 552
hereditario, 683, 688, 690-691, 691*c*
hiperbilirrubinemia causada por, 313*f*, 313*c*, 314
hipermetabolismo en, 157
importancia biomédica de, 681
incidencia de, 681
inestabilidad genómica y aneuploidía en, 691-692, 692*f*
inhibición del metabolismo del folato en el tratamiento de, 537
mecanismos epigenéticos involucrados en, 690
metabolismo en, 695-696, 697*f*, 698*c*
microambiente tumoral en, 682, 694-695, 695*f*
microRNA en, 689-690
neoplasias y, 681-682, 682*f*
nuevas terapias para, 701-703, 702*c*, 703*f*
papel de oncogenes en, 685-688, 685*c*, 686*f*, 687*f*, 687*c*, 688*f*, 688*c*
papel del factor de crecimiento en, 689, 689*c*
papel xenobiótico en, 556-557, 559, 559*f*
paradoja prooxidante y, 544 545
perfiles moleculares de, 703
prevención de, 703, 703*c*
proceso metastásico en, 698, 699*f*, 700*c*
selectinas en, 554
suplementos de ácido fólico para, 538
variación del número de copias en, 692, 692*f*
vesículas extracelulares y, 690
vías de señalización en, 689, 689*c*
vitamina B_6 y, 535
cánceres hereditarios, 683, 688, 690-691, 691*c*
CAP (proteína activadora por catabolito), 412
capacidad total de fijación de hierro, 633
captura de energía, 108
capucha de mRNA, 345, 345*f*
caquexia, 138, 139, 157, 525
carbamatos, transporte de hemoglobina de, 52, 53*f*
carbamoil fosfato
en síntesis, de urea, 275-276, 275*f*
exceso de, 336
carbamoil fosfato sintetasa I
defectos en, 277, 277*c*
en la síntesis de urea, 275-276, 275*f*
carbamoil fosfato sintetasa II, en la síntesis de pirimidina, 332, 333*f*, 334
carbohidratos
clasificación de, 141-142, 142*c*
como aldehído o cetona derivados de alcoholes polihídricos, 141-142, 142*c*
dietas bajas en, 181
digestión y absorción de, 520, 520*f*
disacáridos. *Véase* disacáridos
en lipoproteínas, 147
en membranas celulares, 147
glucoproteínas. *Véase* glucoproteínas
glucosa en sangre derivada de, 177-178, 178*f*
importancia biomédica de, 141
información biológica codificada en, 141
monosacáridos. *Véase* monosacáridos
polisacáridos. *Véase* polisacáridos
rendimientos de energía de, 138*c*
superficie celular, glucolípidos y, 202
vías metabólicas de, 130, 130*f*, 131*f*
a nivel tisular y orgánico, 132-133, 132*f*, 133*f*
en ayuno, 138-139, 138*c*, 139*c*
en alimentación, 136-138, 137*f*, 138*c*
papel de la vitamina B_1 en, 533-534
carbohidratos complejos, glucoproteínas como, 546
carbohidratos glucoconjugados, glucoproteínas como, 546
carboxilacion dependiente de vitamina K, de factores de coagulación, 677-678
carboxilasas, biotina coenzima de, 539
carboxiltransferasa, 217, 217*f*
carboxipeptidasa A, sitio activo de, 59*f*
carboxipeptidasas, 521
carcinogénesis química, 559, 559*f*
carcinogénesis, 682-683, 688
carcinógenos
químicos, 556-557, 559, 559*f*, 683-684, 683*c*, 684*f*
radiación, 683, 683*c*
virus, 684-685, 684*c*, 686*f*, 703
carcinógenos indirectos, 559
carcinógenos químicos, 556-557, 559, 559*f*, 683-684, 683*c*, 684*f*
cardiolipina, 200*f*, 201
compartimentación mitocondrial de, 118
síntesis de, 230, 230*f*, 231*f*
cardiomiocitos, tasa de recambio de, 708*c*
cardiomiopatía hipertrófica familiar, 622
cardiomiopatías, 621-622, 622*c*
cardiopatía coronaria (isquémica). *Véase también* la aterosclerosis
colesterol, 257
carga de carbohidratos, 164
carga, en la síntesis de proteínas, 395, 395*f*
carioferinas, 578
cariotipo, 356*f*
carnitina
deficiencia de, 207, 214-215
en el transporte de ácidos grasos, 208, 208*f*
excreción urinaria de, 724*c*
hígado y músculo, 723*c*
carnitina palmitoiltransferasa, 207
carnitina palmitoiltransferasa-I (CPT-I)
deficiencia de, 215
en el transporte de ácidos grasos, 208, 208*f*
en la regulación de la cetogénesis, 213, 213*f*
carnitina palmitoiltransferasa-II (CPT-II)
deficiencia de, 215
en el transporte de ácidos grasos, 208, 208*f*
carnitina-acilcarnitina translocasa, 208, 208*f*
carnosina, biosíntesis de, 298, 298*f*, 303
carnosinasa, deficiencia de, 303
carnosinuria, 303
cartílago elástico, 607-608, 608*c*
cartílago fibroelástico, 607-608, 608*c*
cartílago hialino, 607, 608*c*
cartílago, 601-602, 607-608, 608*f*, 608*c*, 609*f*
caspasa-DNasa activada (CAD), 692
caspasas, 692-694, 693*f*
catabolismo, 106
captura de energía de la cadena respiratoria proveniente de, 121-122
catalasa, 114, 273, 544, 649
como antioxidante, 204
catálisis (enzimática)
ácido-base, 59-60, 60*f*
cambios conformacionales en, 60, 60*f*
cambios de energía libre de, 69-70, 70*f*
cinética de. *Véase* cinética enzimática
covalente, 59-61, 59*f*, 61*f*, 62*f*
detección de enzimas mediante, 62-63, 62*f*, 63*f*
especificidad de, 57, 57*f*
funciones del grupo prostético, cofactor y coenzima en, 57-58, 58*f*
importancia biomédica de, 56
mutagénesis dirigida al sitio en el estudio de, 66
papel del sitio activo en, 58-59, 59*f*
por cepa, 59
por isozimas, 61-62
por proximidad, 59
residuos conservados en, 61
catálisis ácido-base específica, 59
catálisis ácido-base general, 59
catálisis ácido-base, enzimática, 59–60, 60*f*
catálisis covalente
enzimáticos, 59-61, 59*f*, 61*f*, 62*f*
reducción de la energía de activación por, 72
catalizadores
enzimas como, 9, 57, 57*f*
oxaloacetato como, 150-151, 151*f*
ribozimas como, 66-67
RNA como, 391
catarata diabética, 190-191
catarata, diabética, 190-191
catecolaminas
almacenamiento de, 497, 497*c*
síntesis de, 491-492, 491*f*
caveola, 466, 466*f*
caveolina-1, 466, 466f
CBG (globulina fijadora de corticosteroide), 498-499, 498*c*

CBP (proteína de unión a CREB), 513-514, 514*c*
CBP/p300 y vías de transducción de señal, 513-514, 513*f*, 514c
CD59, 554
CDK-inhibidor de ciclina (CKI), 372
CDK. *Véase* archivo 438
CDK. *Véase* quinasas dependientes de ciclinas
CEA (antígeno carcinoembrionario), 700
cefalina (fosfatidiletanolamina), 200, 200*f*
  asimetría de membrana y, 464
  síntesis de, 230, 230*f*, 231*f*
ceguera, causada por deficiencia de vitamina A, 530
células blanco, 476, 481, 481*c*
células cancerosas
  anomalías de membrana y, 478*c*
  ciclinas y, 369
células del músculo esquelético intercostal, rotación de, 708*c*
células endoteliales
  en hemostasia y trombosis, 670, 672
  selectinas de, 553-554
células fagocíticas, 660
células madre
  en cáncer, 696
  hematopoyéticas, 646-647, 647*f*
  pluripotentes inducidas, 446
células madre hematopoyéticas, derivación de células sanguíneas, 646-647, 647*f*
células madre multipotentes, 646
células madre pluripotentes inducidas (iPSC), 446
células madre pluripotentes, inducidas, 446, 646
células madre totipotentes, 646
células madre unipotentes, 646
células *natural killer*, 656, 662
células progenitoras linfoides, 657
células progenitoras mieloides, 657
células sanguíneas
  blancas. *Véase* glóbulos blancos
  derivación a partir de células madre hematopoyéticas, 646-647, 647*f*
  rojas. *Véase* glóbulos rojos
células T auxiliares, 659, 662
células T citotóxicas, 656, 662
células transfectadas en cultivo, 423, 424*f*
células, transporte de macromoléculas en, 474-475, 474*f*, 475*f*, 477*f*
celulosa, 146-147, 148*f*
centro de dihierro, de hemeritrina, 97, 97*f*
centro dicobre, 99-100, 99*f*
centrómero, 355, 355*f*
centros de hierro Rieske, 97, 98*f*, 120, 121*f*
cepa, catálisis enzimática por, 59
ceramida, 200, 202*f*
  acumulación de, 235
  en la síntesis de esfingolípidos, 233-234, 234*f*
  en membranas, 461
  síntesis de, 233, 233*f*
ceras, 196
cerebro
  en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
  durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
  requerimiento de glucosa de, 136
cerebrósidos, 234
ceruloplasmina, 631, 631*f*, 633-634
  uso diagnóstico de, 64*c*
cetoacidosis, 140, 207, 215
cetoaminas, en diabetes mellitus, 553, 553*f*
cetogénesis, 133
  altas tasas de oxidación de ácidos grasos y, 210-213, 211*f*, 212*f*, 213*f*
  HMG-CoA en, 211, 212*f*
  regulación de, 213-214, 213*f*, 214*f*
cetonemia, 213, 215
cetonuria, 215, 290, 293, 293*c*
cetonuria de cadena ramificada, 290, 293, 293*c*
cetonuria de cadena ramificada intermitente, 290
cetosas, 141-142, 142*c*, 143, 144*f*
cetosis, 139-140, 207, 211, 213, 215, 244
CF (fibrosis quística), 64, 478, 478*c*, 519, 585*c*
cGMP. *Véase* GMP cíclico
chalonas, 227
chaperonas, 41
  en el control de calidad, 584, 584*c*
  en el plegamiento de proteínas, 574-575
  en la clasificación de proteínas, 575*c*, 576
  en la translocación, 576, 577*f*
  histona, 353
  propiedades de, 576*c*
  proteínas mal plegadas y, 584-585, 585f, 585*c*
  unión a proteína dependiente de ATP, 576
chaperonas histonas, 353
chaperonas moleculares. *Véase* chaperonas
chaperoninas, 41, 575
ChIP (inmunoprecipitación de la cromatina), 447, 448*f*
ChIP-chip, 447
ChIP-Exo, 447
chips de DNA, 31
ChIP-Seq, 447
CHK1 y CHK2 (punto de control de quinasas 1 y 2), 371, 371*f*
cianuro, inhibición de la cadena respiratoria por, 112, 118, 123
ciclinas, 368-369, 369*f*, 369*c*
  en cáncer, 691
ciclinas A, 369, 369*f*, 369*c*
ciclinas B, 369, 369*f*, 369*c*
ciclinas D
  cáncer y, 369
  en el ciclo celular, 368-369, 369*f*, 369*c*
ciclinas E, 369, 369*f*, 369*c*
ciclo ATP/ADP, 108, 108*f*
ciclo celular
  anormalidades del cáncer en, 691
  fase S, durante la síntesis de DNA, 368-369, 368*f*, 369*f*, 369*c*
  fases de, 368, 368*f*
  regulación de, 585
  retraso o detención de, 371, 371f
ciclo de ácido tricarboxílico. *Véase* ciclo del ácido cítrico
ciclo de Cori, glucosa derivada de, 177, 178*f*
ciclo de Krebs. *Véase* ciclo del ácido cítrico
ciclo de la hidroxilasa, 115, 116*f*
ciclo de transferrina, 633, 634*f*
ciclo del ácido cítrico, 130, 130*f*, 131*f*
  a nivel subcelular, 134, 134*f*
  dióxido de carbono producido por, 151-153, 152*f*
  en la conservación y captura de energía, 108
  equivalentes reductores producidos por, 151-153, 152*f*
  función metabólica fundamental del, 153-156, 154*f*, 155*f*
  generación de ATP por, 151, 151*f*, 153
  importancia biomédica de, 150
  regulación de, 155-156
  sustratos de la cadena respiratoria proporcionados por, 150-151, 151*f*
  ubicación mitocondrial de, 134, 134*f*, 151
  vía de glucólisis a, 161-163, 162*f*
  vitaminas esenciales para, 153
ciclo del ácido láctico, glucosa derivada de, 177, 178*f*
ciclo glucosa-alanina, 177, 178*f*
ciclo HDL 241*f*, 242
ciclo Q, 120, 121*f*
ciclo urobilinógeno enterohepático, 313
ciclofilinas. *Véase* prolina cis, transisomerasas
cicloheximida, 407
ciclooxigenasa (COX-1), 224-225
  inhibición de, 672
ciclos de sustrato, en glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 176-177
ciclos fútiles
  de lípidos, 525
  en la glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 176-177
ciclosporina, 42
CIN (inestabilidad cromosómica), 692, 692*f*
cinética de saturación, 76
cinética enzimática
  cambios de energía libre, 69-70, 70*f*
  constante catalítica y eficacia catalítica, 75
  constante de equilibrio, 69, 71-72
  ecuación de Hill, 76, 76*f*
  ecuación de Michaelis-Menten, 73-76, 73*f*, 75*f*, 79, 80*f*
  ecuaciones químicas equilibradas, 69
  efectos alostéricos, 86
  en desarrollo farmacológico, 80
  energía de activación de, 69-70, 70*f*, 72
  estados de transición de, 69-70, 70*f*
  gráficos Lineweaver-Burk, 74-75, 75*f*, 77, 77*f*, 78*f*, 79, 80*f*
  importancia biomédica de, 68-69
  inhibición, 76-79, 77*f*, 78*f*
  orden cinético, 71
  reacciones de multisustrato, 79, 79*f*, 80*f*
  reducción catalítica de las barreras de energía de activación, 72
  tasa de reacción. Consúltese tasa de reacción
  velocidad inicial, 73-74, 73*f*
cinética, enzima. *Véase* cinética enzimática
cinetocoro, 355
circulación
  enterohepática, 521
  integración del metabolismo por, 132-133, 132*f*, 133*f*
circulación enterohepática, 255-256, 255*f*, 521
cirrosis, 150, 226, 243, 244
cis-preniltransferasa, 251*f*
cisteína, 16*c*
  catabolismo esquelético de carbono, 283-285, 284*f*
  productos especializados de, 297, 297f
  síntesis de, 265, 267*f*
cistetionina β-sintasa, 285, 300
cistina reductasa, 283, 284*f*
cistina, catabolismo de esqueleto de carbono de, 283-285, 284*f*
cistinosis, 285

cistinuria, 283
cistrón, 411
citarabina, 325, 325*f*
citidina monofosfato (CMP), 322*c*
citidina trifosfato (CTP), 86, 323
citidina, 321*f*, 322*c*, 333
citocinas, 631, 638, 647, 662
  activación del producto final de glicación avanzada, 553
  caquexia resultante de, 139, 525
  en el desarrollo del cáncer, 700
  regulación de glucosa en sangre por, 179-180
aa_3, 112
citocromo b_5, 115, 557, 583, 649
citocromo b_{558}, 660
citocromo b_5 reductasa, 649
citocromo b_H, en cadena respiratoria, 120, 121*f*
citocromo b_L, en cadena respiratoria, 120, 121*f*
citocromo c
  en la apoptosis, 694
  en la cadena respiratoria, 118, 119*f*, 120, 120*f*, 121*f*
  hierro en, 95-96
citocromo c oxidasa (complejo IV), 118, 119*f*, 120-121, 120*f*
  deficiencia de, 126
citocromo c_1, en cadena respiratoria, 120, 121*f*
citocromo duodenal b (Dcytb), 101, 632
citocromo oxidasa, 112
  metales de transición en, 97
citocromo P450 enzima de escisión de la cadena lateral (P450scc), 485, 485*f*
citocromos, como deshidrogenasas, 114
citoesqueleto
  funciones celulares del, 623-625, 624*f*, 625c
  importancia biomédica del, 611
citoquinas proinflamatorias, 700
citosina, 322*c*, 337*f*
  desoxirribonucleósidos, en la síntesis de pirimidina, 332-333
  emparejamiento de bases en DNA, 339, 340*f*
  emparejamiento de bases en RNA, 342, 343*f*
  vías de recuperación de, 333
citosol
  glucólisis en, 134, 134*f*
  lipogénesis en, 216-220, 219*f*, 221, 221*f*
  síntesis de ácidos grasos en, 207
  síntesis de pirimidina en, 332
  vía de pentosa fosfato en, 182-183
citotoxicidad, de xenobióticos, 559, 559*f*
citrato
  en el ciclo de ácido cítrico, 150-151, 151*f*, 152*f*
  en la regulación de la lipogénesis, 218, 221, 221*f*
citrato liasa, 154-155, 155*f*
  regulación de, 89*c*
citrato sintasa
  en el ciclo del ácido cítrico, 151, 152*f*
  regulación de, 156
citrulina, en la síntesis de urea, 275-276, 275*f*
citrulinación, 661, 661*f*
citrulinemia, 278
CJD (enfermedad de Creutzfeldt-Jakob), 42
CKI (inhibidor de ciclina CDK), 372
Cl^-. *Véase* cloruro
clases de secuencia, de genoma, 357
clasificación de proteínas
  aparato de Golgi en, 574, 575*f*, 584
  control de calidad en, 584, 584*c*
  ensamblaje de membrana y, 588-590, 589*f*, 590*c*
  hipótesis de señal de unión polirribosomal, 574, 574*f*, 580-582, 580*c*, 581*f*, 582*f*
  importinas y exportinas en, 578, 578*f*
  inserción de cotraslacional y, 582-583, 582*f*, 583*f*
  mitocondrias, 585*f*, 585*c* y, 575, 577*f*
  núcleo de la célula y, 575*f*, 576-579, 577*c*, 578*f*
  peroxisomas y, 579, 579*f*
  peroxisomas/trastornos de peroxisoma y, 579-580, 580*c*
  proteínas mal plegadas, 584-585
  rama rugoso ER de, 574, 574*f*, 575*f*
  ramas, de, 575, 575*f*
  secuencia de aminoácidos KDEL y, 574*c*, 583
  secuencias de señal y, 573-575, 574*c*, 582*f*, 629
  transporte retrógrado y, 582-584
  trastornos de, 589-590
  vesículas de transporte y, 585-588, 586*c*, 587*f*
clasificación de Villefranche, 595, 596*c*
clatrina, 253, 474*f*, 475, 586, 586*c*
clofibrato, 257
clonación, 435-438, 436*f*, 437*f*, 437*c*
clopidogrel, 672
cloraminas, 661
clorobutanol, efectos de la vía del ácido urónico de, 189
clorofila, 305
cloruro (Cl^-)
  coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
  en el fluido extra e intracelular, 460, 460*c*
cluster P, 97
CMC (complejo modificador de la cromatina), 420
CML (leucemia mieloide crónica), 701
CML. *Véase* leucemia mieloide crónica
CMP (citidina monofosfato), 322*c*
CNS (sistema nervioso central), requerimiento de glucosa de, 136
CNV. *Véase* la variación del número de copias
CO_2. *Véase* dióxido de carbono
coactivadores de la transcripción, 383-385, 385*c*
coagulación sanguínea. *Véase* coagulación, sangre
coagulación, sangre
  prostaglandinas en, 216
  trastornos de, 655
coagulación. *Véase* formación de coágulos de fibrina
coágulos sanguíneos
  formación de, 87. *Véase también* formación de coágulos de fibrina
  función de la vitamina K en, 532-533, 533*f*
cobalamina. *Véase* vitamina B_{12}
cobalofilina, 536
cobalto
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  funciones fisiológicas de, 98
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  toxicidad de, 95*c*
cobamida, 58
cobre, 634
  absorción de, 101
  deficiencia de, 43, 263
  en citocromo oxidasa, 97
  en complejo IV, 120, 120*f*
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  funciones fisiológicas de, 98-100, 99*f*
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  toxicidad de, 95*c*
cociente respiratorio (RQ), 524
código de histona, 87, 418-419
código epigenético de DNA, 384
código epigenético de histona, 419
código genético, 338. *Véase también* DNA
  características de, 394-395, 395*c*
  códigos tripletes en, 394, 394*c*
  importancia biomédica de, 393
  L-α-aminoácidos especificados por, 15, 15*c*-16*c*, 17*c*
códigos tripletes, 394, 394*c*
codón de parada, 403-404, 404*f*
codones, 15, 393
  de sentido erróneo, 394, 397-398, 398*f*
  reconocimiento de anticodón de, 395-396, 396*f*
  secuencia de aminoácidos y, 394, 394*c*
  tablas de uso de, 395
  tope, 403-404, 404*f*
codones de sentido erróneo, 394, 397-398, 398*f*
coeficiente de activación, 565
coeficiente de Hill (*n*), 76, 76*f*
coeficiente de temperatura (Q_{10}), 72
coeficientes de permeabilidad, de sustancias en la bicapa lipídica, 462, 463*f*
coenzima A, 58
  ácido pantoténico en, 539, 539*f*
  conversión de cisteína a, 297
coenzima Q (Q, ubiquinona), 203
  en la cadena respiratoria, 118, 119*f*, 120, 120*f*, 121*f*
  en la síntesis de colesterol, 250-251, 251*f*
coenzimas, 57-58, 58*f*
  derivados de nucleótidos, 323, 324*c*
  nicotinamida oxidación y reducción, 113, 113*f*
  pruebas de laboratorio para, 564-565
cofactor II de heparina, 677
cofactores, 57-58, 58*f*
cola poli(A) de mRNA, 345, 389, 401, 401*f*
colágeno IV, 595-596
colágeno tipo I, 604-605, 605*c*
colágeno tipo II, 607, 608*f*
colágeno tipo IX, 595
colágeno tipo V, 604
colágeno tipo VII, 596
colágeno, 406
  abundancia de, 592
  adhesión de plaquetas a, 670, 671*f*
  clasificación de, 594, 594*f*
  como proteína fibrosa, 43
  condrodisplasias, 595, 608-609
  defectos en, 263-264
  efectos de la vitamina C en, 539
  elastina en comparación con, 597*c*
  en cartílago, 607-608, 608*f*, 608*c*
  en hueso, 604-605, 605*c*
  enfermedades causadas por anomalías en, 595-596, 595*c*
  enlaces *O*-glucosídicos en, 549
  entrecruzamiento de, 553
  estructura de, 592-594, 593*f*, 594*f*
  estructura de triple hélice, 43, 43*f*

formación de fibrillas por, 593-594
interacción de fibronectina con, 597, 598*f*
modificación postraduccional de, 594-595, 594*c*
osteogénesis imperfecta y, 607, 607*c*
procesamiento postraduccional de, 42-44, 43*f*
síntesis de, 43
tipos de, 593*c*
trastornos nutricionales y genéticos de, 43-44
colágenos asociados a fibrillas con triple hélice interrumpidas (FACIT), 594
colágenos transmembrana, 594
colchicina, 625
colecalciferol. *Véase* vitamina D_3
cólera
toxinas, 202, 202*f*, 234, 504
transporte de la glucosa en el tratamiento de, 474
colesteril éster hidrolasa, 253
colesterilización, 463
colesterol
absorción de, 521
aspectos clínicos de, 256-257, 258*c*
dietético, 250, 257
efectos de fructosa sobre, 186, 188*f*, 189-190
en la síntesis de ácidos biliares, 254-256, 256*f*
en lipoproteína, 236-237, 238*f*
en lipoproteínas de alta densidad en, 241-242, 241*f*
en los tejidos, 203, 203*f*
factores que influyen sobre el equilibrio 253, 254*f*
en membranas, 461, 589
modelo de mosaico de fluido y, 465-466
excreción de, 254-256, 256*f*
función de, 202
importancia biomédica de, 249
niveles plasmáticos de
aterosclerosis y enfermedad coronaria y, 202, 250, 256-257
cambios en el estilo de vida y, 257
cambios en la dieta y, 257
terapia farmacológica y, 257
regulación HMG-CoA reductasa y, 86
rutas metabólicas de, 130-131, 131*f*
síntesis de
regulación HMG-CoA reductasa, 252-253, 253*f*
variación diurna en, 252
vía acetil-CoA para, 250-251, 250*f*, 251*f*, 252*f*
síntesis de hormonas de, 202, 249, 483, 484*f*, 485-491, 485*f*
transporte de
con lipoproteínas, 253-254, 255*f*
inversa, 241*f*, 242, 250, 254, 254*f*, 257
colesterol 7α-hidroxilasa, 255, 256*f*
colil-CoA, en la síntesis de ácidos biliares, 255, 256*f*
colina, 200, 200*f*, 201*f*
asimetría de membrana y, 464
deficiencia de, hígado graso y, 244
combustibles metabólicos
consumo humano de, 129-130
durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
naturaleza interconvertible de, 136
procesamiento de, 130-131, 130*f*, 131*f*, 132*f*
compartimentación
de mitocondrias, 118, 118*f*
regulación metabólica de, 83-84
compartimentos especializados, 459
complejo, de metales de transición, 95-97, 95*f*, 96*f*, 96*c*, 97*f*
complejo abierto, 376*f*, 379
complejo ADP-chaperona, 575
complejo ATP-chaperona, 575
complejo cerrado, 376*f*, 379
complejo de ácido graso sintasa, 217-218, 217*f*, 218*f*, 219*f*, 222
complejo de ataque de membrana (MAC), 643
complejo de escisión de glicina, 282-283, 284*f*
complejo de glucoproteína GPIIb-IIIa, en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
complejo de histocompatibilidad mayor (MHC), 584, 659
complejo de iniciación 43S, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
complejo de origen de la replicación (ORC), 362
complejo de preiniciación (PIC), 377, 382*f*
en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
ensamblaje de, 385-386, 385*f*
nucleosomas y, 384
complejo de preiniciación 43S, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
complejo de puente cruzado, 616, 616*f*
complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC), 391
complejo de tensión extrínseca, 673
complejo de transcripción eucariota, 381*f*
activadores de transcripción y correguladores en, 384-385, 385*c*
componentes de, 383
ensamblaje PIC, 385-386, 385*f*
formación de RNA polimerasa II, 383-384
fosforilación para la activación de RNA polimerasa II, 384
nucleosomas y, 384
complejo de transcripción, eucariótico. *Véase* complejo de transcripción eucariótico
complejo de troponina, 615
complejo enzima aromatasa, 487-489, 489*f*
complejo enzima-sustrato (ES), estabilidad de, 58
complejo G trimérico, 50
complejo I. *Véase* NIDH-Q oxidorreductasa
complejo II. *Véase* succinato-Q reductasa
complejo III. *Véase* Q-citocromo c oxidoreductasa
complejo IV. *Véase* citocromo c oxidasa
complejo ligando-receptor, 501-502, 501*f*, 501*c*, 502*f*
complejo mitocondrial de cadena ramificada α-cetoácido deshidrogenasa, 288, 290, 292*f*
complejo modificador de cromatina (CMC), 420
complejo piruvato deshidrogenasa, 161, 162*f*
complejo protrombinasa, 674-675, 675*f*
complejo receptor-correpresor, 502
complejo represivo polycomb 2 (PRC2), 419
complejo ribonucleótido reductasa, 332, 332*f*
complejo Sec61, 581
complejo Sec61/Sec63, 581
complejo tenasa intrínseco, 674
complejo vitamina B
ciclo del ácido cítrico necesidad de, 153
grupos prostéticos, cofactores y coenzimas derivadas de, 58, 58*f*
complejo α-cetoácido descarboxilasa, deficiencia de, 290, 292*f*, 293, 293*c*
complejo α-cetoglutarato deshidrogenasa
en el ciclo del ácido cítrico, 152- 153, 152*f*
regulación de, 156
complejos de iniciación, en la síntesis de proteínas, iniciador 399, 400*f*
complejos de poros nucleares (NPC), 577
complejos de translocación, 576
complejos organometálicos, metales de transición en, 95-97, 95*f*, 96*f*, 96*c*, 97*f*
complejos proteína-RNA, en iniciación, 399, 400*f*, 401
complejos siRNA-miRNA, 348
complementariedad
de DNA, 341, 341*f*, 438
de RNA, 342-343, 344*f*, 346
complementariedad de DNA, archivo (cDNA), 438
complementariedad-regiones determinantes 640
complemento, 539
componente amiloide P sérico, 639
componente P, en amiloidosis, 639
componentes del complemento sérico, 472
comunicación célula a célula
con uniones gap, 476, 476*f*
sulfato de heparano y, 603
comunicación intercelular, 480. *Véase también* sistema endocrino
concanavalina A, 147
concentración de glucosa en plasma. *Véase* glucosa en sangre
condiciones aeróbicas, 157, 158*c*, 160, 620
condiciones anaeróbicas, glucólisis en, 157, 158*f*, 158*c*, 160, 696, 697*f*
condiciones de pseudoprimer orden, 71, 73
condiciones hipóxicas, glucólisis en, 157, 158*f*, 158*c*, 160
condrodisplasias, 608-609
condroitín sulfato, 147, 148f, 595, 599, 601-602, 601*f*, 602c, 604, 604c, 608*f*
condronectina, 608, 608*c*
conexina, 476, 476*f*
conformación nativa, proteína, 41
conformaciones
cambios de hemoglobina en, 51-52, 51*f*, 52*f*
de enzimas, 60, 60*f*
de proteínas
configuración frente a, 33-34
de importancia biomédica, 33
enfermedades patológicas de, 42
nativa, 41
restricciones de enlace peptídico en, 34-35, 34*f*
confórmeros syn, 320, 321*f*
conjugados de glucurónido, producción de glucuronato para, 186-187, 187*f*
conjuntos no covalentes, en membranas, 461
conservación de energía, 108
conservación evolutiva, de residuos catalíticos, 61
constante catalítica (k_{cat}), 75
constante de disociación (K_d)
constante de Michaelis como aproximación de, 75-76
de ácidos débiles y bases, 11
de agua, 10
definición de, 9

constante de frecuencia (*k*), 71-72
constante de Michaelis (K_m), 73*f*, 74-76, 75*f*
  concentraciones de sustrato celular y, 83
  efectos alostéricos en la, 86
  en las reacciones de Bi-Bi, 79, 80*f*
  inhibidor efectos en la, 77-78, 77*f*, 78*f*
constante de Michaelis, de glutatión reductasa, 721
constante de unión, constante Michaelis como aproximación de, 75-76
constante de velocidad de primer orden, 71
constante de velocidad de segundo orden, 71
constante dieléctrica, 7
constante de equilibrio (K_{eq})
  cambio de energía librede Gibbs y, 69, 106
  como proporción de constantes de velocidad, 71-72
  efectos enzimáticos, 72
contracción, músculo. *Véase* contracción muscular
contración muscular
  activación de glucógeno fosforilasa con, 168
  ATP en, 614-616, 615*f*, 620-621, 621*f*
  conversión de energía en, 615-616, 615*f*, 616*f*
  fase de relajación de la, 616
  filamentos finos y gruesos en, 612-613, 613*f*
  función del calcio en, 611, 616-619, 617*f*, 617*c*, 618*f*
óxido nítrico en, 622-623, 624*f*
control de calidad, para pruebas de laboratorio, 561
control respiratorio, 106, 155
convalecencia, reemplazo de proteínas durante, 526
conversión génica, 361
cooperatividad positiva, 76
coproporfirinógeno III, en la síntesis de hemo, 307, 307*f*, 308*f*, 309*f*
coproporfirinógeno oxidasa, 307, 308*f*, 309*f*, 310*c*
coprostanol (coprosterol), 254
corazón
  durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
  en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
córnea, 602
coroides, atrofia giratoria de, 282
correceptores de receptores nucleares, 513-514, 513*f*, 514*c*
correguladores, transcripción, 383-385, 385*c*, 513-514, 513*f*, 514*c*
corrinoides, 536
corticosteroides, 249
cortisol
  reducción de la cortisona a, 184-185
  de transporte de plasma de, 498-499, 498*c*
  pruebas de laboratorio para, 565, 567
  síntesis de, 484*f*, 485*f*, 486
cortisona, cortisol síntesis a partir de, 184-185
cósmidos, 436-437, 437*c*
cotransportadores, 469
COX-1. *Véase* ciclooxigenasa
COX-2, 224
coxibs, 226
$cPLA_2$ (fosfolipasa citosólica A_2), 670, 671*f*
CPT-I. *Véase* carnitina palmitoiltransferasa-I
CPT-II. *Véase* carnitina palmitoiltransferasa-II
creatina fosfato
  en conservación y captura de energía, 108, 109*f*
  en contracción muscular, 620, 620*f*
quinasa de creatin, 620
  compartimentación mitocondrial de, 118
  en transporte fosfato de creatina, 126, 126*f*
  uso diagnóstico, 64, 64*c*
creatina, biosíntesis de, 301, 302*f*
creatinina
  biosíntesis de, 301, 302*f*
  pruebas de laboratorio para, 566
CREB (proteína de unión al elemento de respuesta AMP cíclica), 505
crecimiento celular, 603
crecimiento, requerimientos de energía para, 129
CRISPR-Cas, 348
CRISPR-Cas9, 434*c*, 435, 435*f*, 446-447
cristalografía de rayos x, 39-40
cristalografía, estructuras de proteínas resueltas por, 39-40
cromátidas, 355, 355*f*, 355*c*, 356*f*, 361, 361*f*
cromátidas hermanas, 355, 355*f*, 361, 361*f*
cromatina
  componentes de, 351, 351*f*
  estructura de orden superior y compactación de, 352*f*, 353
  expresión génica y plantilla para, 418-419
  funciones fisiológicas de, 101
  modificaciones covalentes de, 87
  reconstitución en la replicación del DNA, 368
  regiones activas de, 353-354, 354*f*, 418
  regiones inactivas de, 354, 418
cromatina activa, 353-354, 354*f*, 418
cromatina inactiva, 354, 418
cromatografía
  afinidad, 25-26
  proteína de fusión recombinante purificación con, 65-66, 66*f*
  columna, 24, 25*f*
  de intercambio iónico, 25
  purificación de proteína y péptidos con, 23-26, 25*f*
  exclusión de tamaño, 24-25, 25*f*
  interacción hidrofóbica, 25
  líquido a alta presión, 24, 25*f*
  pruebas de laboratorio usando, 564
cromatografía de afinidad
  purificación de proteína y péptidos con, 25-26
  purificación de proteína de fusión recombinante con, 65-66, 66*f*
cromatografía de exclusión por tamaño, 24-25, 25*f*
cromatografía de filtración en gel. *Véase* la cromatografía de exclusión por tamaño
cromatografía de interacción hidrofóbica, purificación de proteínas y péptidos con, 25
cromatografía de intercambio de iones, purificación de proteínas y péptidos con, 25
cromatografía en columna, purificación de proteína y péptidos con, 24, 25*f*
cromatografía líquida
  proteína y purificación de péptidos con, 24, 25*f*
  pruebas de laboratorio que usan, 564
cromatografía líquida a alta presión (HPLC)
  análisis de laboratorio de, 564
  purificación de proteínas y péptidos con, 24, 25*f*
cromo
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  toxicidad de, 95*c*
cromosoma ambulante, 445, 445*f*
cromosomas
  andamiaje en, 352*f*, 353
  conversión de genes, 361
  integración, 359-360, 360*f*
  integridad de, monitoreo, 372
  intercambio de cromátidas hermanas, 361, 361*f*
interfase, 353
  localización de genes a, 441, 442*c*
  metafase, *352f*, 355, 355*c*, 356*f*
  organización de, 355, 355*f*, 355*c*, 356*f*
  politeno, 354
  que codifican regiones de, 355-356, 357*f*
  recombinación de, 359, 359f, 360*f*
  transposición, 360, 442
cromosomas interfásicos, 353
cromosomas metafase, 355, 355*c*, 356*f*
cromosomas polienos, 354, 354*f*
crotonil-CoA, formación de lisina, 286, 288*f*
CRP (proteína C reactiva), 630, 630*c*
cruce desigual, 359, 360*f*
entrecruzamiento, en recombinación cromosómica, 359, 359*f*, 360*f*
CTD (dominio carboxi-terminal), 383-384, 415
CTP (citidina trifosfato), 86, 323
cubilina, 101
cuerpos cetónicos, 207, 210, 211*f*
  ácidos grasos libres como precursores de, 213, 213*f*
  como combustible para tejidos extrahepáticos, 211, 213, 213*f*
  uso cerebral de, 136
  vías metabólicas de, 131, 131*f*, 133, 136
  en ayuno, 138-139, 138*c*
cuerpos de Heinz, 651
cuerpos P, 405, 405*f*, 429
curva de disociación de oxígeno
  de hemoglobina, 49-50, 49*f*
  de mioglobina, 49-50, 49*f*
curva de titulación, para ácidos débiles, 12, 12*f*
curvas, en proteínas, 36, 37*f*
CYP27A1 (esterol 27-hidroxilasa), 255-256, 256*f*
CYP2A6, 557
CYP2C9, 557

D
D-3-hidroxibutirato deshidrogenasa, 210, 211*f*
D-3-hidroxibutirato, 207, 210, 211*f*
DAG. *Véase* diacilglicerol; mediadores de reparación de daño con 1,2-diacilglicerol, 370, 371*f*
D-aminoácidos, libre, 18
dAMP, 322*f*
dantroleno, 618
daño de proteína, reparación de, 714-715, 715*f*
daño oxidativo. *Véase* especies reactivas de oxígeno
DBD. *Véase* dominios de unión a DNA
DBH (dopamina β-hidroxilasa), 491, 491*f*
DCA (dicloroacetato), 696, 698*c*
Dcytb (citocromo duodenal c), 101, 632
deacetilasas, 89
deacilasa (tioesterasa), 218, 218*f*, 219*f*
deaminación, 131
  de aminoácidos, 133
  en el metabolismo del nitrógeno, 273-274, 274*f*

función del ciclo del ácido cítrico en, 153-154, 154*f*
decarboxilación oxidativa
de aminoácidos oxidasas, 273-274, 274*f*
de piruvato, 161-163, 162*f*
en el ciclo del ácido cítrico, 152, 152*f*
decisión de clasificación principal, 574
decitabina, 690
dedo de zinc, 98
estructura de, 95*f*
defectos del tubo neural, suplementos de ácido fólico para, 538
defensinas, 660*c*
deficiencia de 3-cetoacil-CoA tiolasa, 215
deficiencia de adhesión de leucocitos II, 554
deficiencia de adhesión de leucocitaria tipo 1, 658-659
deficiencia de dihidropirimidina deshidrogenasa, 327, 335-336, 336*c*, 337*f*
deficiencia de la purina nucleósido fosforilasa, 327, 335, 336*c*
deficiencia múltiple de sulfatasa, 235
defosforilación, regulación enzimática por, 87-90, 88*f*, 89*c*
degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson), 298, 478*c*, 627, 634
degeneración, de código genético, 394, 394*c*
degradación asociada al retículo endoplasmático (ERAD), 584-585, 585*f*, 585*c*
degradación de proteínas, ubiquitina en, 585, 585*f*
degradación de ubiquitina y proteína, 584-585, 585*f*
depósitos de fibrina, 670
depuración de creatinina, 455
derivación de monofosfato de hexosa. *Véase* vía de pentosa fosfato
desacetilación, regulación enzimática por, 88-89
desacopladores, 123-124, 525
desarrollo de fármacos
enzimas limitantes de la velocidad como blanco de, 84
inhibidores de suicidio en, 78-79
objetivos de RNA para, 348
papel de la cinética enzimática en, 80
pesquizaje de alto rendimiento para, 62-63
telomerasa como blanco para, 355
descarboxilación, oxidativa. *Véase* factor de aceleración de desintegración por descarboxilación oxidativa, 554
descondensación, 661
deshidratasa, 219*f*
deshidrogenación, acoplamiento de hidrogenación a, 106, 107*f*
deshidrogenasas
citocromos como, 114
coenzimas de nicotinamida de, 113, 113*f*
detección de $NAD(P)^+$-dependiente, 63, 63*f*
grupos de flavina en, 114
reacciones de oxidación-reducción de, 112-114, 113*f*
análisis de enzimáticos acoplados usando, 63, 63*f*
desmosinas, 596
desmosomas, 466
desmosterol, en la síntesis de colesterol, 250, 252*f*
desnaturalización
análisis de estructura de DNA y, 340-341
aumentos de temperatura causantes de, 72
replegamiento de proteína después, 41
desnutrición, 519, 524-525, 524*f*
desorción e ionización láser asistida por matriz (MALDI), 29-30, 30*f*
desoxiadenilato, 338-339
desoxiazúcares, 145, 145*f*
desoxicitidilato, 338-339
desoxiguanilato, 338-339
desoxinucleótidos, 338-340, 339*f*
desoxirribonucleasas (DNAasa), 348
cromatina activa y, 353
desoxirribonucleósidos, 320, 332-333
desoxirribosa, 141, 145, 145*f*
desplazamiento isomorfo, 40
despolarización, en la transmisión del impulso nervioso, 473
despolarización, lípidos no polares y, 196
detención de la elongación, 580, 581*f*
detergentes, 462
deterioro neurológico, profundo, 580
deuda de oxígeno, 160
dextrinas, 146
dextrosa, 143
DGAT (diacilglicerol aciltransferasa), 230, 231*f*
DHA (ácido docosahexaenoico), 199, 224
DHT. *Véase* dihidrotestosterona
diabetes insípida nefrogénica, 472
diabetes insípida, nefrógena, 472
diabetes mellitus, 585*c*
alteraciones de la insulina en 130, 140
caso de estudio, 719-720, 725-726
cetosis/cetoacidosis en, 215
gluconeogénesis excesiva en, 172
hemoglobina glucosilada en la gestión de, 55, 553
hígado graso y, 244
lípidos y, 196, 198
lipogénesis y, 216, 220
niveles de ácidos grasos libres en, 238
productos finales de glicación avanzada en, 553, 553*f*
tolerancia de glucosa en, 180-181, 180*f*
trastornos de la cadena respiratoria en, 126
trastornos de transporte y almacenamiento de lípidos, 236-237
diabetes tipo 2, 172
diacilglicerol (DAG), 200, 658
formación de, 230*f*, 234*f*
proteína quinasa C y, 507, 507*f*
diacilglicerol aciltransferasa (DGAT), 230, 231*f*
diagnóstico prenatal, 444-445, 445*f*
diagrama de Ramachandran, 34*f*
diagrama hidropático, 463
diagramas de cinta, 38
diapedesis, 657, 657*f*
diarrea, 474, 555
diazanorleucina, 328, 329*f*
dicloroacetato (DCA), 696, 698*c*
dicumarol, 532
diestra triple o superhélice, 593, 593*f*
dieta
aminoácidos obtenidos sólo a través de la, 14, 131, 264, 264*c*, 526
baja en carbohidratos, 181
elevada en grasa, hígado graso y, 244
estados de deficiencia múltiple en, 527
fructuosa elevada, 186, 188*f*, 189-190
glucosa derivada de la, 177-178, 178*f*
importancia biomédica de la, 519
niveles de colesterol afectados por la, 250, 254, 257
requerimientos
de energía, 129-130, 524-525, 524*f*
de proteína y aminoácido, 525-526
de vitaminas y minerales, 527-528
metales de transición, 93, 93*c*
secreción de VLDL hepática y, 242-243, 243*f*
dietilentriaminopentaacetato (DTPA), 204
difosfato de adenosina (ADP)
captura y transferencia de energía por, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
ciclos del fosfato de, 109, 109*f*
control respiratorio por, 122-123, 123*c*
en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
estructura de, 108*f*, 321*f*
transporte de fosfato de creatina para, 126, 126*f*
difosfato de dimetilalilo, en síntesis, de colesterol, 250, 251*f*
difosfato de farnesilo, en síntesis de colesterol/poliisoprenoide, 250-251, 251*f*
difosfato de geranilo, en la síntesis del colesterol, 250, 251*f*
difosfato de guanosina. *Véase* GDP
difosfato de isopentenilo isomerasa, 251*f*
difosfato de isopentenilo, en la síntesis de colesterol, 250, 251*f*
difosfato de tiamina, 161, 162*f*, 533-534
difosfatos desoxirribonucleósidos (dNDP), 332, 332*f*
difosfomevalonato cinasa, 251*f*
difosfomevalonato descarboxilasa, 251*f*
difusión
facilitada. *Véase* difusión facilitada
red, 468
simple, 467*f*, 467*f*, 467*c*, 468*f*
difusión facilitada, 467-468, 467*f*, 467*c*
mecanismo de ping-pong de, 469, 469*f*
para la glucosa. *Véase* transportadores de glucosa
reguladores hormonales, 469-470
transportadores implicados en la, 468-469, 468*f*, 468*c*, 469*f*
difusión neta, 468
difusión pasiva, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*, 469*f*
difusión simple, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*
digestión
activación de proteasas en la, 87
de hidratos de carbono, 520, 520*f*
de lípidos, 520-521, 522*f*
de proteínas, 521, 523
de vitaminas y minerales, 523-524, 523*f*
importancia biomédica la, 519
metabolismo de los principales productos de la, 130-131, 130*f*, 131*f*, 132*f*
digitálicos, 473
dihidrobiopterina reductasa, 286, 288*f*
dihidrofolato reductasa, 537
dihidrofolato, metotrexato y, 333-334
dihidrolipoil deshidrogenasa, 114, 161, 162*f*
dihidrolipoil transacetilasa, 161, 162*f*
dihidrotestosterona (DHT), 483
síntesis de, 487, 489*f*
transporte de plasma de, 498*c*, 499

dihidroxiacetona fosfato, en glucólisis, 159, 159*f*, 230, 231*f*, 232*f*
dimercaprol, 123
dímero de histona, 351, 351*f*, 353
dímeros
  histona, 351, 351*f*, 353
  proteína Cro, 415, 416*f*
  proteína represora de lambda (c1), 415, 416*f*
dimetilaminoadenina, 323*f*
dinámica molecular, estructuras de proteínas resueltas por, 40
dinamina, 475, 625
dineína citosólica, 625
dineínas axonemales, 625
dinucleótido de fosfato nicotinamida adenina ($NADP^+$)
  como coenzima, 324*c*
  en la síntesis de niacina, 534
  formación de la vía de la pentosa fosfato, 182-185, 183*f*, 184*f*
  fuente intramitocondrial de, 125
  uso de citocromo P450, 115, 115*f*
  uso de deshidrogenasa, 113, 113*f*
  utilizando compartimentación metabólica, 84
  utilizando ensayos espectrofotométricos, 63, 63*f*
dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+)
  como coenzima, 324*c*
  en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153, 155-156
  en hígado graso, 244
  en la síntesis de niacina, 534
  transporte de sustrato en la oxidación de, 125-126, 125*f*
  uso de deshidrogenasa de, 113, 113*f*
  uso del citocromo P450, 115, 115*f*
  utilizando compartimentación metabólica, 84
  utilizando ensayos espectrofotométricos, 63, 63*f*
dinucleótido flavina adenina (FAD), 324*c*
  en ciclo de ácido cítrico, 152*f*, 153
  en citocromos P450, 115, 115*f*
  en complejos de la cadena respiratoria, 118
  en deshidrogenasas, 114
  en oxidasas, 112, 113*f*
  vitamina B_2 en síntesis de, 534
dinucleótido, 325
dióxido de carbono (CO_2)
  anhidrasa carbónica y, 648
  ciclo del ácido cítrico, producción de, 151-153, 152*f*
  transporte de hemoglobina, 52, 53*f*
dioxigenasa, 115
dipalmitoil lecitina, 200, 229
dipeptidasas, 521
dipeptidos β-alanil, biosíntesis de, 303
dipolos, 6-7, 7*f*
disacaridasas, 520
disacáridos, 142
  de importancia fisiológica, 145, 146*f*, 146*c*
  digestión de, 520, 520*f*
disbetalipoproteinemia, familiar, 258*c*
diseño de cremallera de leucina, 427, 427*f*
dislipoproteinemias, 257, 258*c*
disociación ribosomal, en la síntesis de proteínas, 399
disociación, 9-12
displasia
  acromíclica, 597
  colorrectal, 687-688, 688*f*, 688*c*
  geleofísica, 597
  tanatofórica, 609
displasia acromícrica, 597
displasia geleofísica, 597
displasia tanatofórica, 609
distrofia muscular de Becker, 622
distrofia muscular de Duchenne, 622
distrofia muscular de tipo Duchenne, 445
distrofia muscular, 445, 622
defectos de síntesis de glucoproteína en, 554
distrofias musculares congénitas, defectos de síntesis de glucoproteínas en, 554
distrofina, 622, 623f
DIT (diyodotirosina), 492, 493*f*
diversidad de unión, 641
división celular, puntos de control en, 90, 90*f*
diyodotirosina (DIT), 492, 493*f*
DMT-1 (proteína de transporte iónico metal divalente), 101
DNA
  clonación de, 435-438, 436*f*, 437*f*, 437*c*
  código epigenético de, 384
  como polinucleótidos, 325
  complementariedad de, 341, 341*f*, 438
  cromosomal, 352*f*, 355-356, 355*f*, 355*c*, 356*f*
  daño de radicales libres, 541-542, 542*f*
  daños a rotura de la doble hebra, 370, 370*f*, 371*f*
  tipos de, 369, 370*c*
  desenrollamiento de, 378
  digestión parcial de, 438
  elementos potenciadores de, 420-422, 422*f*, 422*c*, 423*f*
  elementos silenciadores, 422-423
  en cromatina, 352*f*
  en flujo de información genética, 393-394
  en la síntesis de RNA. *Véase* RNA, síntesis de
  en nucleosomas, 351, 351*f*, 352*f*, 353
  escisión de la enzima de restricción de, 433-434, 433*c*, 434*f*, 434*c*
  estructura de
    desnaturalización en el análisis de, 340-341
    doble hélice, 339-340, 340*f*
    formas de, 341
    los componentes, 338-339, 339*f*
    surcos en, 340*f*, 341
  estructura de doble hélice de, 8, 339-340, 340*f*
  forma relajada de, 341
  identificación de proteína usando, 28
  importancia biomédica de, 338
  información genética contenida en, 338-341
  inmunoglobulina en reordenamientos de, 361
  interacciones no covalentes en, 8
  mitocondrias, 358-359, 358*f*, 359*c*
  monitorización de la integridad de, 372
  mutaciones en, 350-351, 359-361. *Véase también* mutaciones, genéticas
  reacciones carcinogénicas con, 684
  reacciones xenobióticas con, 559, 559f
  recombinante. *Véase* DNA recombinante
  regiones codificantes de, 355-356, 357*f*
  relación del mRNA, 357*f*
  renaturalización de, unión de pares de bases y, 341
  reparación de, 585
  estudios de, 369-372
  tipos de, 369-370, 370*f*, 370*c*
  replicación y síntesis de, 341, 342f
  complejo de DNA polimerasa en, 362*f*, 363, 363*c*
  control de, 361-362, 362*f*, 362c
  desenrollado de, 363
  en fase S del ciclo celular, 368-369, 368*f*, 368*c*, 369*f*, 369*c*
  formación de burbujas de replicación y, 364, 366*f*, 367-368, 367*f*
  formación de la horquilla de replicación y, 362*f*, 363, 366*f*
  importancia biomédica de, 350-351
  inicio de, 363-364, 365*f*, 366*f*
  naturaleza semiconservativa de, 341, 342*f*
  origen de, 362-363, 362*f*
  pasos en, 362*f*, 362*c*
  polaridad de, 364, 366*f*
  segmento inicial en, 362*f*, 362*c*, 363-364, 365*f*, 366*f*
  reconstitución de la estructura de la cromatina en, 368
  reducción del ribonucleósido difosfato y, 332
  reparación durante, 369-370, 370*c*
  semidiscontinua, 362*f*, 364, 366*f*
  señales epigenéticas durante, 419, 420*f*
  síntesis de RNA en comparación con, 375
  secuencia repetitiva, 357
  secuenciación de, 439, 440*f*
  directo, 445-446
  superespiral, 341, 367, 368*f*
  topoisomerases de, 341
  transcripción de, 341. *Véase también* RNA, síntesis de
  transposición de, 360, 442
  única secuencia (no repetitiva), 357
  unión de bases de, 339, 340*f*
  adecuación para renaturalización, 341
RNA polimerasa bacteriana dependiente de DNA, 377, 377*f*
DNA bicatenario (dsDNA), 339-340, 351, 361, 375
DNA de cadena no modulada, 375
DNA de secuencia repetitiva, 357-358
DNA de secuencia única (no repetitiva), 357
DNA enlazador, 351*f*, 353
DNA helicasa, 362*f*, 363, 363*c*
DNA ligasa, 363*c*, 364
  en preparación de molécula de DNA quimérico, 434-435
  en tecnología de DNA recombinante, 434*c*
DNA metilasas, secuencia específica, 433
DNA metiltransferasas (DNMT), inhibidores de, 690
DNA mitoondrial, 358–359, 358*f*, 359*c*
DNA monocatenario (ssDNA), 361
DNA no repetitivo (secuencia única), 357
DNA polimerasa dependiente de RNA viral, 344
DNA polimerasas
  en replicación, 362*f*, 363, 363*c*
  en tecnología de DNA recombinante, 434*c*, 440, 441*f*
  procariotas y eucariotas, 364*c*
DNA primasa, 362*f*, 363*c*
DNA topoisomerasas, 367, 367*f*
DNA-interacciones con las proteínas
  bacteriófago lambda como paradigma, 414–418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
  mapeo de, 446-447

DNA-PK (proteína quinasa dependiente de DNA), 370, 371*f*
DNasa I,
cromatina activa y, 353
en tecnología de DNA recombinante, 434*c*
DNasa. *Véase* desoxirribonucleasas
dNDP (desoxirribonucleósidos difosfatos), 332, 332*f*
DNMT (DNA metiltransferasas), inhibidores de, 690
doble hélice, de estructura de DNA, 8, 339-340, 340*f*
doble negativo, 410
dolicol pirofosfato, en la síntesis de glucoproteínas, 550-551, 551*f*
dolicol, 203, 204*f*
en la síntesis de colesterol, 250-251, 251*f*
dolor, prostaglandinas en, 216
dominio carboxi-terminal (CTD), 383-384, 415
dominio de unión a ligando (LBD), 511-512, 512*f*
dominio de unión C-terminal, 37
dominio de unión N-terminal, 37
dominios
albúmina, 630
cromatina, 352*f*, 353, 355
de receptores de hormonas, 481-482
DNA de unión. *Véase* dominios de unión a DNA
proteína, 37, 38*f*, 39*f*
dominios de activación (AD), 381, 427, 428*f*, 512
dominios de unión al DNA (DBD), 381
de proteína factor de transcripción reguladora, 425*c*
diseño de cremallera de leucina, 427, 427*f*
diseño hélice-espiral-hélice, 425–426, 426*f*
diseño de dedo de zinc, 426, 426*f*
de proteína represora c1, 415
separación del dominio de transactivación de, 427-428, 428*f*
dominios de unión, 37, 38*f*
dominios en bucle, cromatina, 352*f*, 353, 355
dominios hidrófobos, 37
dominios reguladores, 37
donantes de protones, ácidos como, 10
dopa descarboxilasa, en la biosíntesis de catecolaminas, 491, 491*f*
dopamina β-hidroxilasa
cobre en, 98-100
vitamina C como coenzima para, 539
dopamina β-hidroxilasa (DBH), 491, 491*f*
dopamina, 491, 491*f*. *Véase también* catecolaminas
DPE (elemento promotor corriente abajo), 380
D-ribosa, 320, 321*f*
DSB (roturas de doble cadena), 370, 370*f*, 371*f*
DsDNA (DNA de doble cadena), 339-340, 351, 361, 375
DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético), 204
DUE (elemento de desenrollamiento del DNA), 362-363
D-α-aminoácidos, importancia biomédica de, 14

E
E. coli, hipótesis del metabolismo de la lactosa y el operón en, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
E'_0. *Véase* potencial redox
E_{act}. *Véase* energía de activación
E-cadherina, en cáncer, 698, 700*c*
ECF (fluido extracelular), 460, 460*c*
ECM. *Véase* matriz extracelular
EcoRI, 433, 433c, 436*f*
EcoRII, 433*c*
ecuación de Henderson-Hasselbalch, 12, 12*f*
ecuación de Hill, 76, 76*f*
ecuación de Michaelis-Menten, 73-76, 73*f*, 75*f*
para las reacciones de Bi-Bi, 79, 80*f*
ecuaciones químicas
equilibrio de, 69
orden cinético, 71
ecuaciones químicas balanceadas, 69
edema
concentración de proteína plasmática y, 628
deficiencia de vitamina B_1 en, 534
kwashiorkor causante, 525
edición de RNA, 391
EDTA (etilendiaminotetraacetato), 204
EF (factores de elongación), 402-403, 403*f*, 403*c*
EF1A (factor de elongación 1A), 402, 403*f*
EF2 (factor de elongación 2), 403, 403*f*
EFA. *Véase* efectores de ácidos grasos esenciales, apoptosis, 692-694, 693*f*
efecto Bohr, 52, 53*f*
efecto electrógeno, 473
efecto hidrofóbico, en el autoensamblaje de la bicapa lipídica, 462
efecto Warburg, 695-696, 697*f*, 698*c*
efectores alostéricos negativos, 85
efectores alostéricos, 85-86, 85*f*, 136, 175
efectores isostéricos, 86
eficacia catalítica (k_{cat}/Km), 75
EGF. *Véase* el factor de crecimiento epidérmico
eicosanoides, 16, 197, 198, 224, 225*f*, 662
eIF-1A, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
eIF-2, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
eIF-3, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
eIF-4F complejo, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*, 401-402, 401*f*
eIFs, en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
ejecutores, de apoptosis, 692-694, 693*f*
elastasa, 521
catálisis covalente, 61
elastina, 596, 597*c*, 607
electrodos de iones específicos, 564
electrófilos, 8
carcinógenos como, 684
en catálisis enzimática, 58
electroforesis bidimensional, evaluación de la pureza de la proteína con, 26, 27*f*
electroforesis en gel
gel de poliacrilamida, 26 y 26*f*
proteína y purificación de péptidos con, 26, 26*f*
electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), 26, 26*f*
electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), purificación de proteínas y péptidos con, 26, 26*f*
electroforesis. *Véase también* electroforesis en gel
para el análisis de proteínas plasmáticas, 628
electrolitos
bicapa de lípidos y, 462
medidas de, 564
elemento de desenrollamiento de DNA (DUE), 362-363
elemento de origen de la replicación (ORE), 362
elemento de respuesta del potenciador, 422*f*
elemento promotor corriente abajo (DPE), 380
elementos de control de transcripción, 385*c*
elementos de respuesta de hierro, 634-635
elementos de respuesta hormonal (HRE)
en generación de señal, 501, 502*f*
expresión génica y, 423, 424*f*
secuencias de DNA de, 502*c*
tipos de, 511
elementos del DNA
combinaciones de, 424, 425*f*
expresión tejido-específica de, 423
genes informadores y, 423, 424*f*
mejora de expresión génica y represión por, 420-423, 422*f*, 422*c*, 423*f*
regiones de control del *locus* y aislantes, 424-425
elementos inorgánicos, requerimiento humano de, 93, 93*c*
elementos limitantes, 425
elementos nucleares cortos intercalados (SINE), 357-358
elementos nucleares largos intercalados (LINE), 357-358
elementos reguladores del DNA, 422, 423*f*
eliminación del promotor, 378
eliptocitosis hereditaria, 651, 653
ELISA. *Véase* enzima unida a ensayos inmunosorbente
Elongación
en la síntesis de proteínas, 402-403, 403*f*, 403*c*
en la síntesis de proteoglicanos, 600
en la síntesis de RNA, 376*f*, 378
elongación de cadena, 376*f*, 378. *Véase también* elongación
elongación de cadena, en la síntesis de ácidos grasos, 220, 221f
elongasa, 220, 221*f*
en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados, 223-224, 223*f*
EM (microscopía electrónica), estructuras de proteínas resueltas por, 40
emaciación, 130
embarazo
hígado graso de, 215
hipoglucemia durante, 180
requerimientos de glucosa, 136
EMT (transición epitelial a mesénquima), 698, 699*f*
emulsiones, formación de lípidos anfipáticos, 204-205, 205*f*
encefalopatía
acidosis láctica con, 118
deficiencia de vitamina B_1 en, 534
encefalopatía de Wernicke, 534
encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidente cerebrovascular (MELAS), 126
encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica, 313-314
endocitosis mediada por receptor, 474*f*, 475
endocitosis, 459, 467*c*
de macromoléculas, 474-475, 474*f*, 475*f*, 477*f*
LDL en, 253
endoglucosidasas, 603
endonucleasas de restricción
diagnóstico clínico usando, 64
observación directa de, 62*f*

endonucleasas, 348, 433. *Véase también* enzimas de restricción
en la preparación de la molécula de DNA quimérico, 434-435
endopeptidasas, 521
endosimbiosis, 710
energía de activación (E_{act}), 69-70, 70*f*, 72
energía de activación. *Véase* energía de activación
energía libre
ATP como fuente celular de, 108-110, 108*f*, 109*f*, 121-122
cambios de reacción química en, 69-70, 70*f*, 105-106
captura y transferencia de energía por fosfatos de alta energía, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
como energía útil en sistemas biológicos, 105-106
de hidrólisis de ATP, 107-108, 107*c*, 108*f*
efectos enzimáticos sobre, 72
obtención de, 107
potencial redox y, 111- 112, 112*c*
regulación metabólica y, 83-84, 83*f*
energía ligada a transidrogenasa, mitocondrial, 125
energía. *Véase también* bioenergética; energía libre
para el transporte activo, 472, 472*c*
requerimiento humano de, 129-130, 524-525, 524*f*
transducción en membranas, 459
energías de enlace, de átomos biológicamente significativos, 7*c*
enfermedad
análisis molecular de, 442-445, 443*f*, 444*f*, 444*c*
autoinmune, 627, 628*c*
clasificación de proteínas y, 573
conformacional, 585*c*
de la piel, 3
genética. *Véase* enfermedades genéticas
glóbulos rojos y, 646, 650*c*
interrelación bioquímica con, 2, 2*f*
membranas y, 459, 478*c*
procesos bioquímicos subyacentes, 3
proteoglicanos y, 604
reparación del daño del DNA, 369, 370*c*
enfermedad autoinmune
causada por daño de radicales libres, 542
papel xenobiótico en, 559
enfermedad cardiovascular
ácidos grasos ω3 y, 199
biomarcadores de, 567
lípidos y, 198
suplementos de ácido fólico para, 538
enfermedad celiaca, 519
enfermedad de Alzheimer
ácidos grasos ω3 y, 199
conformaciones de proteínas patológicas en, 42
trastornos de la cadena respiratoria en, 126
enfermedad de células I 478, 478*c*, 554, 585*c*
enfermedad de cordero gemelo, 215, 244
enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), 42
enfermedad de Crohn, 226
enfermedad de eliminación remanente, 258*c*
enfermedad de Fabry, 235*c*
enfermedad de Farber, 235*c*
enfermedad de Gaucher, 235*c*, 585*c*
enfermedad de Hartnup, 288, 289*f*, 535
enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), 243
enfermedad de celulas de inclusión (célula-I), 478, 478*c*, 554, 585*c*
enfermedad de Krabbe, 235*c*
enfermedad de las células falciformes, 397*f*
análisis de pedigrí de, 443-444, 444*f*
diagnóstico prenatal de, 444-445, 445*f*
mutaciones de la hemoglobina, 54, 54*f*
punto de mutación en, 442, 443*f*
tecnología para, 432
enfermedad de Niemann-Pick, 235*c*
enfermedad de ojo de pez, 258*c*
enfermedad de Pompe, 166, 167*c*
enfermedad de Tángier, 258*c*
enfermedad de Tay-Sachs, 235*c*, 585*c*
enfermedad de vómitos de Jamaica, 215
enfermedad de Von Gierke, 166, 167*c*, 335
enfermedad de von Willebrand, 585*c*, 655, 678
enfermedad de Wilson, 298, 478*c*, 627, 634
enfermedad del núcleo central, 618, 620*c*
enfermedad granulomatosa crónica, 661
enfermedad Refsum infantil, 580, 580*c*
enfermedad Refsum, 215, 580, 580*c*
enfermedad urinaria jarabe de arce (MSUD), 290, 293, 293*c*
enfermedad β general, 258*c*
enfermedades de almacenamiento de glucógeno, 164, 166, 167*c*, 170
enfermedades de almacenamiento de glucolípidos, 229
enfermedades de deficiencia de proteostasis, 590
enfermedades genéticas
de huesos, 607, 607*c*
de músculos, 621-623, 622*c*, 623*f*, 624*f*
mutaciones de proteína de membrana, 478, 478*c*
tecnología
terapia génica para, 446
enfermedades infecciosas
desnutrición en, 525
enzimas para el diagnóstico de, 64-65
kwashiorkor después, 525
papel de las glucoproteínas en, 555
pérdida de proteína en, 526
enfermedades neurodegenerativas, priones, 42
enfermedades priónicas, conformaciones proteicas patológicas en, 42
enfisema, 638
enfoque animal transgénico, 423
enfoque del gen quimérico, 422*f*, 423, 424*f*
enfoque del gen reportero, 422*f*, 423, 424*f*
enfoque isoeléctrico (IEF), purificación de proteínas y péptidos con, 26, 27*f*
enlace asparagina-*N*-acetilglucosamina, en glucoproteínas, 548*f*, 550, 550*f*
enlace glucosilamina, 600
enlace isoaspartilo en esqueleto del polipéptido, 715*f*
enlaces covalentes
en colágeno, 43
estabilización de biomoléculas por, 7, 7*c*
interacción membrana lípido-proteína y, 463
enlaces covalentes cruzados, 593
enlaces cruzados proteína-proteína y glicación de proteínas, 714*f*
enlaces del ácido anhídrido, 320
enlaces disulfuro
en estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas, 39
en quimioquinas, 658, 658*f*
formación, 41-42
enlaces dobles conjugados, en porfirinas, 308, 310*f*
enlaces *N*-glucosídicos, en glucoproteínas, 547, 548*f*, 550-551, 550*f*, 551*f*
enlaces no α-peptídicos, entre ubiquitina y proteínas, 270, 270*f*
enlaces *O*-glucosídicos, 593, 599-600
en glucoproteínas, 547, 548*f*, 549-550
enlaces peptídicos
carácter de doble enlace parcial, 21, 22*f*
entre aminoácidos, 20
entre ubiquitina y proteínas, 270, 270*f*
formación de, 9, 402
hidrólisis de, 708-709, 709*f*
restricciones de la estructura secundaria de, 34-35, 34*f*
enlaces, estabilización biomolécular por, 7, 7*c*
enoil reductasa, 218*f*, 219*f*
enolasa, en glucólisis, 159, 159*f*
ensayos de unión competitiva a ligandos, usando pruebas de laboratorio, 565
ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), 63
pruebas de laboratorio usando, 565
ensayos sándwich, usando pruebas de laboratorio, 565
entactina, 598
entalpía, 106
entropía, 106
envejecimiento
cáncer y, 698
como proceso preprogramado, 715-717
importancia biomédica del, 707
matriz extracelular y, 592
mortalidad y, 708
proteoglicanos y, 604
telomerasa y, 355
teoría de la mutación somática del, 714
teorías del uso y desgaste del. *Véase* las teorías del uso y desgaste del envejecimiento
teorías metabólicas del, 715-716, 716*c*
enzima 3-cetoacilo, 217, 219*f*
enzima acil, 217, 219*f*
enzima convertidora de angiotensina (ECA), 495
enzima de ramificación, en glucogénesis, 165-166, 165*f*, 166*f*
enzima desramificante, en glucogenólisis, 166, 166*f*
enzima málica, en la producción de NADPH, 218, 219*f*, 220*f*
enzima saturada de acilo, 217, 219*f*
enzimas
actividad de, 75, 564-565, 564*f*
bifuncional, 176
cambios conformacionales de, 60, 60*f*
cinética de. *Véase* cinética enzimática
clasificación de, 57
coenzimas de, 57-58, 58*f*
cofactores de, 57-58, 58*f*
como blancos farmacológicos, 80
como catalizadores, 9, 57, 57*f*
conservación de residuos catalíticos en, 61

de neutrófilos, 659, 660*c*
degradación de
rango de, 270
regulación de, 84-85
detección de, 62-63, 62*f*, 63*f*
diagnóstico clínico usando, 63-65, 64*c*, 65*f*, 564-565, 564*f*
digestivo, 521
DNA recombinante en estudios de, 65-66, 66*f*
en la reparación del DNA, 350
especies reactivas de oxígeno y, 713
especificidad de, 57, 57*f*
grupo reacciones de transferencia de, 9
grupos prostéticos de, 57-58, 58*f*
de enzimas, 57-58, 58*f*
flavinas, 112, 113*f*, 114-115, 115*f*
hemo. *Véase* hemo
protohemo, 114
homólogos, 61
importancia biomédica de, 56
inactivación de metales pesados de, 94
inhibidores. *Véase* inhibidores
isoenzimas, 61-62
mecanismos de acción de, 56
catálisis ácido-base, 59-60, 60*f*
catálisis covalente, 59-61, 59*f*, 61*f*, 62*f*
cepa, 59
mutagénesis dirigida al sitio en estudio de, 66
proximidad, 59
membranas en localización de, 459
nucleasas, 348
regulación de
activa o pasiva, 83, 83*f*
alostérica, 85-86, 85*f*, 135-136, 135*f*
cantidades, 84-85
enzimas limitantes de la velocidad como objetivos de, 84
hormonas en, 86, 135-136, 135*f*
importancia biomédica de, 82-83
mecanismos múltiples de, 85
modificaciones covalentes en, 85-90, 88*f*, 89*c*
papel de compartimentación en, 83-84
proenzimas en, 87-88, 88*f*
redes de control de, 90, 90*f*
segundos mensajeros en, 86
reguladores, 135
RNA, 343
síntesis de, regulación de, 84
sitio activo de, 58-59, 59*f*
terapia de reemplazo para, 235
velocidad limitante, 84
vida media de, 270
enzimas activadas por metales, 58
enzimas bifuncionales, 176
enzimas de borde en cepillo, 520
enzimas de difusión limitada, 75
enzimas de restricción (RE), 348
en preparación de molécula de DNA quimérico, 434-435
escisión de la cadena de DNA con, 433-434, 434*f*, 434*c*
selección de, 433, 433*c*
enzimas lisosomales en enfermedad de células I, 478, 478*c*
enzimas reguladoras, de vías metabólicas, 135
enzimología de diagnóstico, 63-65, 64*c*, 65*f*, 564-565, 564*f*
enzimología de una sola molécula, 62, 62*f*
enzimopatía, 650
eosinófilos, 656, 659, 661, 661*f*
EPA (ácido eicosapentaenoico), 199, 222*f*, 224
epidermis, 708*c*
epidermolisis bullosa, 595*c*, 596, 625
epigenética, 82
código de histona como, 87
en desarrollo de cáncer, 690
epimerasas, 600
epímeros, 143, 144*f*
episomas, 436
epítopes, 36
EPO (eritropoyetina), 647, 649
epóxido hidrolasa, 559, 559*f*
epóxidos, 559, 559*f*
eptifibatida, 672
equilibrio
de nitrógeno en humanos sanos, 525
de reacciones químicas, 69
equilibrio ácido-base, papel del amoniaco en, 275
equilibrio de nitrógeno positivo, 525
equivalente metabólico (MET), 524
equivalentes reductores
generación de la vía de pentosa fosfato de, 185
oxidación de la cadena respiratoria de, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*
producción del ciclo del ácido cítrico, 151-153, 152*f*
ER. *Véase* retículo endoplásmico
ERAD (degradación asociada al retículo endoplasmático), 584-585, 585*f*, 585*c*
ergosterol, 203, 203*f*
ergotioneína, 298, 298*f*
eritrocitos. *Véase también* glóbulos rojos
en alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
glucólisis en, 161, 161*f*, 648, 648*c*
requerimiento de glucosa de, 136
vía pentosa fosfato y
deterioro en, 188-189
glutatión peroxidasa en, 185-186, 186*f*
eritromicina, 145
eritropoyesis
deficiencia de hierro, 636
etapas iniciales de, 649
eritropoyetina (EPO), 647, 649
eritrosa-4-fosfato, en la vía de la pentosa fosfato, 183*f*, 184*f*, 185
erlotinib, 702
ERp57, 551
errores congénitos del metabolismo
características generales de, 276-277
defectos del ciclo de la urea, 276-278, 277*c*
del metabolismo de aminoácidos, 276-278, 277*c*, 280-281, 293, 294*c*
espectrometría de masas en tándem en el pesquisaje de, 278, 280
estudios iniciales en, 2
gen o modificación proteica para, 278
mucopolisacaridosis, 603-604, 604*c*
pesquisaje de neonato para, 565-566
ES (complejo enzima-sustrato), estabilidad de, 58
Escherichia coli, metabolismo de lactosa en, hipótesis del operón y, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
esclerosis múltiple, 234, 473
escorbuto, 43, 263, 266, 540, 596
escritores de código, 418
escualeno epoxidasa, en la síntesis de colesterol, 250, 252*f*
escualeno sintetasa, 251*f*
escualeno, en la síntesis de colesterol, 250, 251*f*, 252*f*
esferocitosis, hereditaria, 478*c*, 650*c*, 651, 653
esfingofosfolipidos, 196
esfingolípidos, 199, 201f, 229
aspectos clínicos de los, 234-235, 235*c*
en esclerosis múltiple, 234
formación de, 233-234, 234*f*
esfingolipidosis, 234-235, 235*c*
esfingomielinas, 199, 200*f*
asimetría de membrana y, 464, 589
en membranas, 461
síntesis de, 233-234, 234*f*
esfingosina, 199, 200*f*
conversión de serina a, 300
espacio intermembrana, de las mitocondrias, 118, 118*f*
espacio mitocondrial intermembrana, proteínas en, 576
especies de oxígeno reactivo (ROS), 649, 709
como subproductos tóxicos de la vida, 710*f*
daños causados por, 541-542, 542*f*
en el desarrollo de cáncer, 683, 700
en peroxidación lipídica, 204, 204*f*
formación de metales pesados, 94
fuentes de, 542-543, 543*f*
generación de estallido respiratorio, 660
intercepción perjudicial de mecanismos enzimáticos y químicos, 713
mecanismos de protección contra, 543-544, 544*f*
paradoja antioxidante y, 544-545, 544*c*
reacción con moléculas biológicas, 711*f*
reacciones autoperpetuadas en cadena de, 541
reacciones de hidroperoxidasa con, 114
reacciones de superóxido dismutasa con, 116
reacciones en cadena y, 710
especificidad
de enzimas, 57, 57*f*
de prueba de laboratorio, 562, 562*f*, 563*c*
de receptores hormonales, 481, 481*f*
especificidad de reconocimiento del promotor, 377
espectrina, 651, 652, 652*f*, 652*c*, 653
espectrofotofluorimetría, 563-564
espectrofotometría
de porfirinas, 308, 310*f*
pruebas de laboratorio usando, 563-564
pruebas enzimáticas utilizando, 63, 63*f*
espectrofotometría de absorción, utilizando pruebas de laboratorio, 563-564
espectrofotometría de fluorescencia, pruebas de laboratorio usando, 563-564
espectrometría de absorción atómica, 564
espectrometría de masas (MS)
análisis de proteínas usando, 28-30, 28*c*, 29*f*, 30*f*
configuraciones de espectrómetro usadas para, 28-30, 29*f*, 30*f*
detección de enfermedad metabólica con, 278
métodos de volatilización para, 29-30, 30*f*
proteómica con, 447
tándem, 30, 278, 280
espectrómetros de masas cuadrupolares, 28, 29*f*

espectrómetros de masas de tiempo de vuelo (TOF), 28-29
espectrómetros de masas de un solo cuadrupolo, 28, 29*f*
espectrómetros de masas TOF (tiempo de vuelo), 28-29
espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR), estructuras de proteínas detectadas por, 40
espectroscopia por NMR (resonancia magnética nuclear), estructuras de proteínas detectadas por, 40
espectroscopia, estructuras de proteínas resueltas por, 40
esperanza de vida, 708, 708*c*
espermidina, 299, 299*f*, 300*f*
espermina, 299, 299*f*, 300*f*
espina bífida, suplementos de ácido fólico para, 538
espliceosoma, 386-387
estabilización del estado de transición, en catálisis enzimática, 59
estado alimentado, combustibles metabólicos en, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
estado de transición
  de reacciones químicas, 69-70, 70*f*
  estabilización enzimática de, 72
estado inmunocomprometido, 644-645, 656
estado profago, 415
estado R. *Véase* estado relajado
estado redox, 210
estado relajado (R), de la hemoglobina, 50-52, 51*f*, 52*f*
estado T. *Véase* estado tenso
estado tenso (T), de la hemoglobina, 50-52, 51*f*, 52*f*
  estabilización de 2,3-difosfoglicerato, 53, 53*f*
estados de valencia, de metales de transición, 93, 94*f*, 94*c*, 95
estados intermedios de transición tetraédrica, 60, 60*f*
estallido respiratorio, 525, 660
  radicales libres, 542
estatinas, 84
estearoil-CoA, 223, 223*f*
esteatohepatitis no alcohólica (NASH), 243
estenosis supravalvular aórtica, 596
estequiometría, 69
estereoespecificidad, de enzimas, 57, 57*f*
estereoquímica (-*sn*) sistema de numeración, 199, 199*f*
estereoquímica, de L-α-aminoácidos, 17
ésteres de colesterilo, 203, 253-254, 255*f*
  en metabolismo de HDL, 241*f*, 242
  en núcleo de lipoproteína, 236, 237, 238*f*
esteroides
  almacenamiento de, 497, 497*c*
  bicapa lipídica y, 462
  citocromo P450 en metabolismo de, 115-116, 115*f*, 116*f*
  como molécula precursora, 483, 484*f*
  estereoisómeros de, 203, 203*f*
  funciones de, 202
  núcleo de, 202, 202*f*
  papel de vitamina B_6 en acciones de, 535
  receptores para, 482
  transporte de plasma de, 498*c*, 499
  vías metabólicas de, 131, 131*f*
esteroides gonadales, transporte de, 498*c*, 499
Esteroidogénesis
  ovárica, 487-489, 489*f*, 490*f*
  testicular, 487, 488*f*
esteroidogénesis ovárica, 487-489, 489*f*, 490*f*
esteroidogénesis suprarrenal
  resumen de, 485, 485*f*
  síntesis de andrógenos, 486*f*, 487
  síntesis de glucocorticoides, 486-487,
  síntesis mineralocorticoide 486*f*, 485-486, 486*f*
esteroidogénesis testicular, 487
esterol 27-hidroxilasa (CYP27A1), 255-256, 256*f*
esteroles, 202, 461
estradiol, 483, 484*f*, 485*f*, 498*c*, 499
estreptomicina, 145
estreptoquinasa, 64, 679
estriol, 487, 489*f*
estrógenos
  niveles de colesterol y, 257
  síntesis de, 487-489, 489*f*, 490*f*
  transporte de aminoácidos y, 470
estrona, 487-488, 489*f*, 498*c*, 499
estructura cuaternaria, 36-37, 38*f*, 39*f*
  como orden de la estructura de la proteína, 34
  de la hemoglobina, 50-53, 50*f*, 51*f*, 52*f*, 53*f*
  diagramas esquemáticos de, 38-39
  factores estabilizadores en, 39
estructura de tapón de 7-metilguanosina, mRNA, 389
estructura primaria
  aminoácidos y, 20-21
  determinación de
  espectrometría de masas para, 28-30, 28*c*, 29*f*, 30*f*
    genómica y, 28
    proteómica y, 30-31
    reacción de Edman para, 27-28, 27*f*
    técnicas de biología molecular para, 28
    técnicas de purificación para, 23-26, 25*f*, 26*f*, 27*f*
    trabajo de Sanger en, 26-27
  como orden de la estructura de la proteína, 34
  de colágeno, 43, 43*f*
estructura primaria, de RNA, 342-343, 346*f*
estructura secundaria, RNA, 342, 343*f*, 346*f*
estructura terciaria, 36-37, 38*f*, 39*f*
  como orden de la estructura de la proteína, 34
  de colágeno, 43, 43*f*
  de mioglobina y hemoglobina, 50
  diagramas esquemáticos de, 38-39
  factores estabilizadores en, 39
estructuras de anillo de piranosa, 143, 143*f*
estructuras de anillos de furanosa, 143, 143*f*
estructuras de barril, 575
estructuras de resonancia de, aminoácidos, 18-19, 19*f*
estructuras secundarias
  bucles y curvas, 36, 37*f*
  como orden de estructura proteica, 34
  de colágeno, 43, 43*f*
  de mioglobina y hemoglobina, 50
  hélices α, 35-36, 35*f*, 37*f*
  hojas β, 36, 36*f*, 37*f*
  plegables en, 41
  restricciones de enlace peptídico, 34-35, 34*f*
estructuras supersecundarias, 36
estudios de inhibición del producto, 79
etanol
  hígado graso y, 244
  inducción de citocromo P450 por, 557
etanolamina, 201, 201*f*
éter lípidos, biosíntesis de, 232*f*
ETF (flavoproteína que transfiere electrones), 114
etilendiaminotetraacetato (EDTA), 204
eucromatina, 354
evaluación clínica, de las pruebas de laboratorio, 562-563, 563*c*
evento de cambio genético lítico/lisogénico, 415, 415*f*
evolución
  vida útil y, 717
  hipótesis del mundo RNA, 66-67
EV (vesículas extracelulares), 476-478, 477*f*, 690
exocitosis, 459, 467*c*, 474-475, 475*f*, 477*f*, 574
exoglucosidasas, 603
exones, 356, 357*f*
  descripción de, 386
  empalme de, 386-388, 387*f*, 388*f*
  procesamiento de, 387*f*, 393-394
exonucleasas, 348, 433
  en tecnología de DNA recombinante, 434*c*
exopeptidasas, 521
exosomas, 476-478, 477*f*
  cáncer y, 690
exportinas, 578
expresión coordinada, 412
expresión de genes eucariotas
  amplificación, 429, 429*f*
  bacteriófago lambda como paradigma para interacciones proteína-DNA, 414-418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
  características especiales de, 418
  como modelo de estudio, 411
  diversidad de respuesta en, 424, 425*f*
  elementos potenciadores de DNA y, 420-423, 422*f*, 422*c*, 423*f*
  estabilidad de mRNA y, 430, 430*f*
  expresión tejido-específica de, 423
  mecanismos epigenéticos, 419-420, 420*f*, 421*f*
  métodos de, 428, 428*c*
  modelo base de cromatina en, 418-419
  ncRNA alteración de la función de mRNA en, 428-429
  procariotes en comparación con, 428-430, 429*f*, 430*f*
  procesamiento de RNA alternativo y, 430
  regiones de control de *locus* y aislantes en, 424-425
expresión genética constitutiva, 411, 414
expresión génica
  constitutiva, 411, 414
  en regulación de síntesis de nucleótido de pirimidina, 334
  función del ácido retinoico en, 529-530
  miRNA e inhibición siRNA de, 348
  silenciamiento de, 87
expresión génica procariótica
  características únicas de, 411
  como modelo de estudio, 411
  eucariotas en comparación con, 428-430, 428*c*, 429*f*, 430*f*
  tipo encendido-apagado de, 424
extravasación, de células cancerosas, 698, 699*f*
extremos adhesivos, 433, 434*f*

extremos escalonados, 433, 434*f*
extremos romos, 433, 434*f*
ezetimiba, para hipercolesterolemia, 257

F
FAB (bombardeo atómico rápido), 29-30, 30*f*
FACIT (colágenos asociados a fibrillas con triples hélices interrumpidas), 594
factor 1 de ribosilacion-ADP (ARF-1), 242, 243*f*
factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1), 696-697
factor activador de plaquetas (PAF), 229
  síntesis de, 230*f*, 232, 232*f*
factor de células madre, 647
factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), en cáncer, 689, 689*c*
factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), 697
factor de crecimiento epidérmico (EGF)
  en la generación de señal de insulina, 508, 509*f*
  receptor para, 482, 702
factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), 482
  en la generación de la señal de insulina, 508, 509*f*
factor de diferenciación del crecimiento 15 (GDF15), 635
factor de elongación 1A (EF1A), 402, 403*f*
factor de elongación 2 (EF2), 403, 403*f*
factor de liberación 1 (RF1), 403, 404*f*
factor de liberación 3 (RF3), 403-404, 404*f*
factor de Von Willebrand, 678
  en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
factor estimulante de colonias, 647
factor I. *Véase* fibrinógeno
factor II. *Véase* factor de protrombina
factor III. *Véase* factor de tejido
factor intrínseco, 101, 536
factor IX, 673*c*, 674, 674*c*
  deficiencia de, 678
  medicamentos cumarínicos y, 677-678
factor lipotrópico, 244
factor natriurético auricular (ANF), 482, 483*c*
factor nuclear kappa-B (NFκB), 553, 631
factor relajante derivado del endotelio, 622
factor rho (ρ), 378
factor tisular (TF), 673, 673*c*, 674*c*
factor V de Leiden, 677
factor V, 673*c*, 674*c*, 675, 675*f*
factor VII, 673, 673*c*, 674*c*, 677-678
factor VIII, 673*c*, 674, 674*c*
  deficiencia de, 678
factor X, 673*c*, 674*c*
  activación de la vía intrínseca, 672-674, 672*f*, 673*f*
  activación de protrombina por, 674-675, 675*f*
  activación de vía extrínseca, 672-673, 672*f*, 673*f*
  medicamentos cumarínicos y, 677-678
factor XI, 673*c*, 674, 674*c*
factor XII, 673*c*, 674, 674*c*
factor XIII, 673*c*, 674*c*, 677
factores de coagulación, 672, 673*f*, 673*c*, 674*c*
  carboxilación dependiente de vitamina K, 677-678
  deficiencias de, 678
factores de crecimiento, en cáncer, 689, 689*c*
factores de elongación (EF), 402-403, 403*f*, 403*c*
factores de iniciación eucariotas (eIF), en la síntesis de proteínas, 399, 400*f*
factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF), 578, 578*f*
factores de transcripción, 385*c*, 717
  para síntesis de enzima, 84
factores generales de transcripción (GTF), 381, 381*f*
  activadores y correguladores y, 384-385
  en formación de RNA polimerasa II, 383-384
  en formación PIC, 385-386
factores inhibidores del crecimiento, en cáncer, 689
FAD. *Véase* dinucleotido adenina flavina
$FADH_2$, generación de oxidación de ácidos grasos, 209, 209*f*
fagocitosis, 474, 656, 657, 659-661, 659*f*, 660*c*
fagos, en tecnología de DNA recombinante, 436, 437*c*
fagosomas, 659
familia Alu, 358, 360
familia de coactivadores p160, 514, 514*c*
familia de correpresores, 514, 514*c*
familia de péptido POMC, 496-497, 497*f*
familia de péptidos proopiomelanocortina (POMC), 496-497, 497*f*
farmacogenómica, 3
farmacorresistencia, 429
  en cáncer, 702-703, 702*c*
fármacos antifolato, síntesis de nucleótidos de purina afectada por, 328, 330
fármacos antipalúdicos, inhibidores del metabolismo del folato como, 537
fármacos antiplaquetarios, 672
fármacos cumarínicos, 677-678
fármacos de estatinas, 250, 250*f*, 257
fármacos hipolipidemiantes, 257
fármacos sulfonilureas, 215
fase de relajación de la contracción muscular, 616
fase G1 y G2, 368, 368*f*, 369*f*
fase M, 368, 368*f*, 369*f*
fase mitótica, 368, 368*f*, 369*f*
fase S del ciclo celular, durante la síntesis de DNA, 368-369, 368*f*, 369*f*, 369*c*
fatiga, defectos de glucólisis que causan, 157
favismo, 189
fenil isotiocianato, 27, 27*f*
fenilalanina hidroxilasa, 266, 267*f*, 286, 288*f*
  localización del gen de, 442*c*
fenilalanina, 16*c*
  absorción de luz ultravioleta por, 20, 20*f*
  catabolismo del esqueleto de carbono, 286, 288*f*
fenilcetonuria (PKU), 286, 288*f*
feniletanolamina-N-metiltransferasa (PNMT), 491*f*, 492
fenobarbital, 557
fenoles, sulfatación de, 558
fenómeno autoinmune, 627, 628c
fenotipo mutante, 691-692, 692*f*
fenotipo SADDAN, 609
fermentación, por extracto de células libre de levadura, 1-2
ferritina, 405, 523, 523*f*, 632-633, 632*c*, 634-635, 635*f*
ferroportina,632, 635
ferroquelatasa, 307, 308*f*, 309*f*, 310*c*
fertilización, función de glucoproteína en, 553
FFA. *Véase* ácidos grasos libres
FGFR3 (receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico), 609
FH (hipercolesterolemia familiar), 241, 257, 258*c*, 478, 478*c*, 585*c*
fibras de contracción lenta, 621
fibras de contracción rápida, 621
fibras de cromatina, 352*f*, 353
fibrilinas, 557, 557*f*
fibrillas 597*f*, 593-594, 594*f*, 607
fibrillas de cromatina, 352*f*, 353
fibrina, 670
fibrinógeno (factor I), 627, 628, 629*f*, 672, 673*c*, 674*c*
  conversión a fibrina, 675-677, 675*f*, 676*f*
  en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
fibrinólisis, 678-679, 678*f*
  vía intrínseca en, 674*f*
fibrinopéptido A (FPA), 676-677, 676*f*
fibrinopéptido B (FPB), 676-677, 676*f*
fibroblastos, pinocitosis por, 475
fibronectina, 595, 597-598, 598*f*
fibrosis quística (CF), 64, 478, 478*c*, 519, 585*c*
filamentos (finos) actina, 612-613, 613*f*, 614*f*
filamentos (gruesos) de miosina, 612-613, 613*f*
filamentos de actina, 587, 623-624
filamentos finos (actina), 612-613, 613*f*, 614*f*
filamentos gruesos (miosina), 612-613, 613*f*
filamentos intermedios, 625, 625*c*
filipasas, 464
filoquinona, 528*c*, 532-533, 533*f*
filtración glomerular, 598
filtro de selectividad, 470, 471
finasterida, 703
FISH (hibridación fluorescente *in situ*), 441
fitasas, 523
fitohemaglutininas, 547
flavoproteína de transferencia de electrones (ETF), 114
flavoproteínas
  citocromos P450, 115, 115*f*
  deshidrogenasas, 114
  en complejos de la cadena respiratoria, 118
  oxidasas, 112, 113*f*
FLIP, en apoptosis, 693*f*, 694
flip-flop, fosfolípido, asimetría de membrana y, 464
fluidez, membrana, 465-466
fluido extracelular (ECF), 460, 460*c*
fluido intracelular (ICF), 460, 460*c*
flujo, metabolito, 83, 83*f*, 89, 135-136, 135*f*
flujo en masa, en vesículas de transporte, 587
fluorescencia, de porfirinas, 308, 310*f*
fluoroacetato, 151, 152*f*
fluoruro, inhibición de la enolasa por, 159, 159*f*
fluvastatina, 257
FMN. *Véase* mononucleótido de flavina
forma B de DNA, 340, 340*f*
forma de DNA relajado, 341
forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD), 42
formación de coágulos de fibrina
  amplificación en, 677
  conversión de fibrinógeno a fibrina, 675-677, 675*f*, 676*f*
  conversión de protrombina a trombina, 674-675, 675*f*

deficiencias hereditarias de, 678
disolución de plasmina, 678-679, 678*f*
vía extrínseca, 672-673, 672*f*, 673*f*, 673*c*, 674*c*
vía intrínseca, 672-674, 672*f*, 673*f*, 673*c*, 674*c*
formación de dímeros de timina y luz UV, 712
formas congénitas de distrofia muscular, 622
fosas recubiertas, 475
fosfágenos, en la conservación y captura de energía, 108
fosfatasa alcalina no tejido específica (TNAP), 605
fosfatasa alcalina, 64*c*, 605
fosfatasa en cascada, 482, 483*c*
fosfatasa múltiple de fosfato de inositol (MIPP), 53
fosfatasas de ácido púrpura, hierro en, 97
fosfatasas, en tecnología de DNA recombinante, 434*c*
fosfatidato fosfatasa (PAP), 230, 231*f*
fosfatidato fosfohidrolasa, 230, 231*f*
fosfatidato, 230-232, 230*f*, 231*f*, 232*f*
fosfatidilcolinas, 200, 200*f*
asimetría de membrana y, 464
metabolismo de, 233*f*
síntesis de, 230, 230*f*, 231*f*
fosfatidiletanolamina (cefalina), 200, 200*f*
asimetría de membrana y, 464
síntesis de, 230, 230*f*, 231*f*
fosfatidilglicerol, 200*f*, 201
fosfatidilinositidos
acción de la hormona dependiente del calcio y, 507-508, 507*f*, 508*f*
como segundo mensajero, 200, 200*f*, 482, 483*c*, 502
fosfatidilinositol
en membranas, 200, 200*f*
síntesis de, 230, 230*f*, 231*f*
fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PiP_2), 200
división de fosfolipasa C de, 507, 508*f*
en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
en pinocitosis absortiva, 475
fosfatidilserina, 200, 200*f*, 230, 230*f*, 231*f*
asimetría de membrana y, 464
fosfato
captura y transferencia de energía en, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
en la síntesis de RNA, 378
en líquido extracelular e intracelular, 460*c*
fosforilación oxidativa en síntesis de, 118, 121-122, 122*f*
transporte de fosfato de creatina para, 126, 126*f*
fosfato de arginina, en conservación y captura de energía, 108
fosfatos de alta energía
ciclos de, 109, 109*f*
de captura de energía y la transferencia por, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
fosforilación oxidativa en la síntesis de, 118, 121-122, 122*f*
para transporte de fosfato de creatina, 126, 126*f*
fosfatos de baja energía, 107
fosfodiesterasas, 167, 168*f*, 169*f*, 325, 505
fosfoenolpiruvato
en glucólisis, 159, 159*f*
en la gluconeogénesis, 172-173, 173*f*
fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, 153
en gluconeogénesis, 173, 173*f*
fosfofructoquinasa
deficiencia de, 163
en glucólisis, 159, 159*f*
inversión de la reacción catalizada por, 173*f*, 174
regulación de, 161, 176, 176*f*
fosfofructoquinasa-2, 176, 177*f*
fosfoglicerato mutasa, en glucólisis, 159, 159*f*
fosfoglicerato quinasa
en eritrocitos, 161
en glucólisis, 159, 159*f*
fosfoglicéridos, en membranas, 461, 461*f*, 589
fosfoglicerol
degradación y remodelación de, 232-233, 233*f*
lisofosfolípidos en el metabolismo de, 201, 201*f*
síntesis de, 230-232, 230*f*
fosfoglucomutasa, en la glucogénesis, 164, 165*f*
fosfohexosa isomerasa, en glucólisis, 159, 159*f*
fosfoinosítidos, 200, 482, 483*c*
fosfolipasa A_1, 232, 233*f*
fosfolipasa A_2, 232, 232*f*, 233*f*
fosfolipasa B, 232, 233*f*
fosfolipasa C (PLC), 658
activación e interacciones hormona-receptor de, 507, 507*f*
división de PiP_2 por, 507, 508*f*
en la degradación y remodelación del fosfoglicerol, 232, 233*f*
fosfolipasa citosólica A_2 ($cPLA_2$), 670, 671*f*
fosfolipasa Cβ (PLCβ), en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
fosfolipasa D, 232, 233*f*
fosfolipasas, en la degradación y remodelación del fosfoglicerol, 232-233, 233*f*
fosfolípidos de inositol, 229
fosfolípidos, 196
aspectos clínicos de, 234-235
como precursores de segundo mensajero, 229
digestión y absorción de, 520-521, 522*f*
en actividad de lipoproteína lipasa, 240
en esclerosis múltiple, 234
en lipoproteínas, 236, 237
en membranas, 199-201, 200*f*, 461, 461*f*, 463, 589
asimetría de, 464, 589, 589*f*
éter de glicerol, síntesis de, 230, 232, 232*f*
síntesis de, 230, 231*f*
fosfomevalonato quinasa, 251*f*
fosfoproteína fosfatasas, 505-506
fosfoproteínas acídicas, 605
fosfoproteínas, 505
fosforilación
acoplamiento de oxidación a, 122-123, 123*c*
de histonas, 351, 353*c*
de piruvato deshidrogenasa, 161-163, 162*f*
detección de espectrometría de masas de, 28*c*
en la activación de RNA polimerasa II, 384, 385*f*
en la conservación y captura de energía, 108
en la glucólisis y la regulación de la gluconeogénesis, 175
en la regulación del glucógeno, 166-168, 169*f*, 170, 171*f*
multisitio, 170
nivel de la cadena respiratoria, 122
nivel de sustrato, 122
oxidativa. *Véase* fosforilación oxidativa
regulación de enzimas por, 86-90, 88*f*, 89*c*
fosforilación a nivel de la cadena respiratoria, 122
fosforilación a nivel de sustrato, 122
fosforilación multisitio, 170
fosforilación oxidativa, 620
aspectos clínicos de la, 126
control de la, 122-123, 123*c*
desacoplamiento de, 123-124
en compartimentos mitocondriales, 118, 118*f*
en la conservación y captura de energía, 108
importancia biomédica de la, 118
inhibición de, 118
síntesis de fosfato de alta energía por, 118, 121-122, 122*f*
fosforilasa quinasa a, 168, 169*f*, 171*f*
fosforilasa quinasa b, 89*c*, 168, 169*f*, 171*f*
fosforolisis, como reacción de transferencia de grupo, 9
fosforribosil pirofosfato (PRPP)
en el síndrome de Lesch-Nyhan, 334-335
en la síntesis de pirimidina, 332, 332*f*, 333*f*
en la síntesis de purina, 328, 329*f*, 330
fosfoserina, 300
fosfotirosina, 300
fosfotreonina, 300
fosfotriosa isomerasa, en glucólisis, 159, 159*f*
fotólisis, 489-490
fotometría de llama, pruebas de laboratorio utilizando, 564
fotosensibilidad, porfirias que causan, 311
fototerapia de cáncer, 308
FPA (fibrinopéptido A), 676-677, 676*f*
FPB (fibrinopéptido B), 676-677, 676*f*
fracción de glicerol, 130
fragmentos de Okazaki, 363-364, 363*c*, 366*f*
fructoquinasa, 186, 188*f*, 189
deficiencia de, 190
fructosa
absorción de, 520, 520*f*
en catarata diabética, 190-191
en la vía de la glucólisis, 161
estructura de, 143, 143*f*
importancia fisiológica de, 144*c*
ingestión de grandes cantidades de, 186, 188*f*, 189-190
metabolismo defectuoso de, 190
fructosa 1,6-bisfosfatasa
deficiencia de, 190
en la gluconeogénesis, 173*f*, 174
en la vía pentosa fosfato, 183*f*, 184*f*, 185
fructosa 1,6-bisfosfato
en glucólisis, 159, 159*f*
en gluconeogénesis, 173*f*, 174
fructosa 2,6-bisfosfatasa, 176, 177*f*
fructosa 2,6-bisfosfato, en glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 176, 177*f*
fructosa-2,6-bisfosfatasa, catálisis covalente de, 61, 62*f*
fructosa-6-fosfato
en glucólisis, 159, 159*f*
en gluconeogénesis, 173*f*, 174
en vía de la pentosa fosfato, 183*f*, 184*f*, 185
fructosuria, 190
fructosuria esencial, 190
fucosa, 147, 148*f*, 548*c*
fucosil (Fuc) transferasa, 653

fuerza motriz de protones, de cadena respiratoria, 121, 122*f*
fuerzas de apilamiento de base, 340
fuerzas de Starling, 628
fuerzas de Van der Waals, 8, 8*f*, 339-340
fuerzas no covalentes
  conformaciones peptídicas y, 21
  en estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas, 39
  estabilización de biomoléculas por, 7-8, 8*f*
fumarasa (fumarato hidratasa), en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
fumarato
  en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
  en la síntesis de urea, 275*f*, 276
fumarilacetoacetato hidrolasa, 286, 287*f*
funciones de desintoxicación, citocromo P450 en, 115-116, 115*f*, 116*f*, 556-558
furina, 588, 588*f*
fusión de membrana, 586
fusión de vesículas, 588
FXR (receptor farnesoide X), 256, 513*c*

G
G6PD. *Véase* glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GA. *Véase* aparato de Golgi
GABA (γ-aminobutirato), biosíntesis de, 303, 303*f*
GAG. *Véase* glucosaminoglicanos
Gal transferasa, 654
GAL1 potenciador, 427, 428*f*
galactoquinasa, 187, 189*f*
galactosa, 141, 143, 144*f*
  absorción de, 520, 520*f*
  en glucoproteínas, 547, 548*c*
  importancia fisiológica de, 144*c*
  metabolismo alterado de, 191
  metabolismo de, 187-188, 189*f*
galactosa-1-fosfato uridil transferasa, 187, 189*f*
galactosamina, 145, 145*f*
  síntesis de, 188, 190*f*
galactosemias, 191
galactósido, 145
galactosilceramida, 202, 202*f*, 234, 234*f*, 235*c*, 461
galato de propilo, como antioxidante/conservante de alimentos, 204
galio, toxicidad por, 94
GalNAc (N-acetilgalactosamina), 547, 548*c*, 549
GalNAc transferasa, 654
ganglиósido GM1, 202, 202*f*
ganglиósido GM3, 202
ganglиósidos, 147
ganglиósidos, 202
  amino azúcares en, 145, 145*f*
  en membranas, 461
  síntesis de, 234, 234*f*
GAP (proteínas que aceleran la GTPasa), 578
gap 1 y fase 2, 368, 368*f*, 369*f*
gap funciones, 459, 476, 476*f*
gasto de energía total, 524
gasto de energía, 524, 524*f*
gastroenteropatía perdedora de proteína, 630
gastrulación retorcida 1 (TWSG1), 635
GDF15 (factor de diferenciación del crecimiento 15), 635
GDH. *Véase* glutamato deshidrogenasa
GDP, 587
GEF (factores de intercambio de nucleótidos de guanina), 578, 578*f*
gefitinib, 702
geldanamicina, 590
gemación de vesículas, 586-587, 587*f*
gemfibrozil, 257
gen *A*, 653-654
gen B, 653-654
gen cro 415, 415*f*
gen de glucoquinasa (GK), 388-389, 389*f*
gen GK (glucoquinasa), 388-389, 389*f*
gen inducible, 411
gen inducido por insulina (Insig), 252
gen interferón β, 422, 423*f*
gen *lacA*, 411-412, 411*f*, 413*f*
gen *lacI*, 411- 412, 411*f*, 413*f*, 414
gen *lacY*, 411-412, 411*f*, 413*f*
gen *lacZ*, 411-412, 411*f*, 413*f*
gen lambda represor (c1), 415, 415*f*
gen *MYC*, en cáncer, 685, 686*f*, 687*c*
gen *O*, 653-654
gen *P53*, 687*c*, 691, 694
gen que codifica el mRNA, 441
gen *RB*, 687*c*, 691
gen represor c1, 415, 415*f*
gen represor, lambda (c1), 415, 415*f*
gen α-globina
  producción defectuosa de, 442-443, 443*c*
  ubicación del gen 442*c*
gen β-globina, 421-422, 422*f*
  alteraciones estructurales de, 442, 444*c*
  producción defectuosa de, 442, 443*f*
  representación esquemática de, grupo, 442, 443*f*
  ubicación de, 442*c*
generación de señal
  en hormonas del grupo I, 501-502, 501*f*, 501*c*, 502*f*
  en hormonas del grupo II
    calcio, 507
    cAMP, 503-506, 503*c*, 504*c*, 505*f*
    cGMP, 506
    fosfatidilinosítido, 507-508, 507*f*, 508*f*
    intracelular, 502-503
    proteínas quinasas, 508-511, 509*f*, 510*f*
    receptores acoplados a proteína G, 503, 503*f*
genes
    alteración de, 359-361, 359*f*, 360*f*
    cáncer, 682, 685-688, 685*c*, 686*f*, 687*f*, 687*c*, 688*f*, 688*c*
    de los citocromos P450, 557
    knockout/knockin, 446
    enfermedad que causa variaciones en, 442, 443*f*, 444*c*
    importancia biomédica de, 338
    inducible, 411
    inmunoglobulina, reordenamiento del DNA y, 360-361
    alteración dirigida de, 446-447
    localización del cromosoma, 441, 442*c*
    mantenimiento, 411
    mapeo de, 355, 441, 442*c*
    procesado, 360
genes de inmunoglobulina
    amplificación y, 429
    reordenamiento de DNA y, 360-361
genes de la proteína coriónica, 429, 429*f*
genes de mantenimiento, 411
genes de proteínas *s36* y *s38*, corion, 429*f*
genes de resistencia a ampicillina (Amp), 437
genes de resistencia a tetraciclina (Tet), 437
genes del envejecimiento
    factores de transcripción, 717
    organismos modelo de, 716-717
genes humanos, localización de, 441, 442*c*
genes nucleares, proteínas codificadas por, 576
genes procesados, 360
genes supresores vigilantes de tumores, 686-687
genes supresores de tumores, 685-688, 685*c*, 686*f*, 687*f*, 687*c*, 688*f*, 688*c*
  estudios tempranos sobre, 2 *p53*, 372
genética molecular. *Véase* la tecnología de DNA recombinante
genoma
  función del, 356-357
  regulación dirigida de genes en, 446-447
  secuencias de repetición de microsatélites en, 358
  secuencias no repetitivas en, 357
  secuencias repetitivas en, 357-358
genoma mitocondrial, 576
genomas adenovirales (Ad), 437
genomas virales asociados adenovirus (AAV), 437
genómica, utilizando proteínas de identificación, 28
genotipos retrovirales, 437
geometría tetraédrica, de moléculas de agua, 6, 7*f*
GGT. *Véase* γ-glutamiltransferasa
GH. *Véase* crecimiento de hormonas
giro, en proteínas, 36, 37*f*
giros β, 36, 37*f*
glándula hipofisaria, hormonas de, 179
glándulas suprarrenales, citocromos P450 en, 557
GlcN (glucosamina), 602
glibenclamida, 215
gliburida, 215
glicación, 546
  en diabetes mellitus, 55, 553, 553*f*
glicanos, 546, 547*c*, 550-551, 550*f*
  en virus, bacterias y unión a parásitos, 555
gliceraldehído-3-fosfato
  en glucólisis, 159, 159*f*, 160*f*
  en vía de la pentosa fosfato, 182-185, 183*f*, 184*f*
gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, en glucólisis, 159, 159*f*, 160*f*
glicerofosfolípidos, 196, 199, 201*f*
glicerol éter fosfolípidos, síntesis de, 230, 232, 232*f*
glicerol fosfato aciltransferasa, compartimentación mitocondrial de, 118
glicerol quinasa, 229, 230, 231*f*, 244
glicerol, 196, 199
  absorción de, 521
  coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
  en gluconeogénesis, 174
glicerol-3-fosfato
  acilglicerol biosíntesis y, 230, 231*f*
  triacilglicerol esterificación y, 244-245, 245*f*
glicerol-3-fosfato aciltransferasa, 230, 231*f*
glicerol-3-fosfato dehidrogenasa mitocondrial, 114

glicerol-3-fosfato deshidrogenasa, 230, 231*f*
glicerosa, 142, 143*f*
glicina, 15*c*
  biosíntesis de hem de, 305-307, 306*f*, 307*f*, 308*f*, 309*f*, 310*c*
  catabolismo de esqueleto de carbono de, 282-283, 284*f*
  conversión de treonina a, 285, 285*f*
  productos especializados de, 298, 298*f*, 300-301, 302*f*
  síntesis de, 265, 266*f*
glicinuria, 283
glicoma, 141
glicómicas, 3, 141, 447
globulina fijadora de corticosteroide (CBG), 498-499, 498*c*
globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), 499, 499*c*
globulina fijadora de tiroxina (TBG), 498
globulina testosterona-estrógeno vinculante (TEBG), 499
globulinas, 628
glóbulos blancos
  fagocitosis, 474, 656, 657, 659-661, 659*f*, 660*c*
  importancia biomédica de, 656
  integrinas en, 658-659, 659*c*
  múltiples tipos de, 656-657, 657*f*
  regulación de producción de, 657
glóbulos rojos
  derivación de células madre hematopoyéticas, 646-647, 647*f*
  enfermedades que afectan, 646, 650*c*
  funciones de los, 647-648, 647*f*, 648*c*
  glucólisis de, 648, 648*c*
  importancia biomédica de los, 646
  membrana de, 651-653, 651*f*, 652*f*, 652*c*
  reemplazo, 648-649
  sistema ABO, 653-654, 654*f*
  transporte de CO_2 por, 648
  vida útil de los, 648-649
glomérulo renal, 598
glomerulonefritis, 598-599
glucagón, 130, 138
  en glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 175
  en la síntesis de colesterol, 252-253, 253*f*
  en regulación de la lipogénesis, 221-222, 222*f*
  regulación de glucógeno por, 167
  regulación de glucosa en sangre por, 179, 179*c*
glucano transferasa, en glucogenólisis, 166, 166*f*
glucano, 145
glucobiología, 141
glucocálix, 147, 202, 229
glucocorticoides
  en la síntesis de colesterol, 252-253, 253*f*
  en lipólisis, 246, 246*f*
  regulación de glucosa en sangre por, 179
  regulación de la expresión génica por, 501, 501*f*
  síntesis de, 486-487, 486*f*
  transporte de plasma de, 498-499, 499*c*
  uso terapéutico de, 511
  vía de regulación NF-κB por, 510-511, 510*f*
glucoesfingolípidos (GSL), 196, 202, 202*f*, 229, 478, 654
  aminoazúcares en, 188
  asimetría de membrana y, 464, 590
  en membranas, 461
  síntesis de, 234, 234*f*
glucoforinas, 147, 549, 652, 652*c*
glucofosfatidilinositol, 463
glucógeno primario, 164-165
glucogénesis, 132
  regulación de, 166-170, 168*f*, 169*f*, 170*f*, 171*f*
  vía de reacción de, 164-166, 165*f*, 166*f*
glucogenina, en glucogénesis, 164-165, 165f
glucógeno fosforilasa, 620
  en glucogenólisis, 166, 166*f*
  regulación de, 89*c*, 166-168, 169*f*, 170, 171*f*
glucógeno sintasa
  en glucogénesis, 165, 165*f*, 166*f*
  gluconeogénesis y, 173*f*, 174
  regulación de, 89*c*, 166-168, 170, 170*f*, 171*f*
glucógeno sintasa a, 168
glucógeno sintasa b, 168
glucógeno, 141
  aspectos clínicos de, 170
  como combustible metabólico, 130, 136
  en la contracción muscular, 620, 621*f*
  función de almacenamiento de, 145-146, 147*f*, 164, 165*c*
  gluconeogénesis y, 173*f*, 174
  importancia biomédica de, 164
  regulación de, 166-170, 168*f*, 169*f*, 170*f*, 171*f*
  ruptura de, 157, 158*f*, 158*c*
  síntesis en el hígado de, 136-137
  vía de reacción de glucogenólisis para, 165*f*, 166, 166*f*, 167*c*
  vía de reacción de la glucogénesis para, 132, 164 -166, 165f, 166*f*
  vías metabólicas de, 130, 132-133, 132*f*
glucogenólisis, 133
  glucosa en sangre derivado de, 177-178, 178*f*
  inducción y represión de las enzimas que catalizan, 174-175, 175*c*
  regulación de, 166-170, 168*f*, 169*f*, 170*f*, 171*f*
  vía de reacción de, 165*f*, 166, 166*f*, 167*c*
glucolípidos, 196, 202, 202*f*
  producción de galactosa para, 187-188, 189*f*
glucólisis, 130, 131*f*
  a nivel subcelular, 134, 134*f*
  aspectos clínicos de, 163
  barreras termodinámicas a la reversión de, 172-174, 173*f*
  cambio de energía libre de Gibbs, 84
  dihidroxiacetona fosfato en, 230, 231*f*, 232*f*
  en células cancerosas, 695-696, 697*f*, 698*c*
  en condiciones anaeróbicas, 157, 158*f*, 158*c*
  en eritrocitos, 161, 161*f*, 648, 648*c*
  en la conservación y captura de energía, 108
  importancia biomédica de, 157
  inducción y represión de las enzimas catalizadoras, 174-175, 175*c*
  oxidación de piruvato después de, 161-163, 162*f*
  reacción generadora de flujo en, 135
  reacciones de, 157-160, 159*f*, 160*f*
  regulación de gluconeogénesis y, 174-177, 175*c*, 176*f*, 177*f*
  regulación de, 160-161
  ruta de la pentosa fosfato conexiones con, 183*f*, 185
gluconeogénesis, 130, 133, 161
  aspectos clínicos de, 180-181, 180*f*
  cambio de energía libre de Gibbs, 84
  dietas bajas en carbohidratos y, 181
  función del ciclo del ácido cítrico en, 153-154, 154*f*
  glucosa en sangre derivada de, 177-178, 178*f*
  importancia biomédica de, 172
  inducción y represión de las enzimas catalizadoras, 174-175, 175*c*
  pasos reversibles de la glucólisis, 172-174, 173*f*
  metabolismo del propionato y, 174, 174*f*
  regulation de, 174-177, 175*c*, 176*f*, 177*f*
gluconolactona hidrolasa, en la vía de la pentosa fosfato, 183*f*, 184, 184*f*
glucoproteína glucosiltransferasas, 549-550
glucoproteínas, 34, 147, 148*c*, 628, 653
  amino azúcares en, 145, 145*f*, 188
  asimetría de membrana y, 464
  cadenas de oligosacáridos en, 546, 547*c*, 550-551, 550*f*, 555
  clases de, 547, 548*f*, 549
  como precursoras de hormonas, 484, 484*f*
  degradación de, 270
  en diabetes mellitus, 553, 553*f*
  en la membrana plasmática, 552
  en virus, bacterias y parásitos vinculantes, 555
  enlaces *N*-glucosídicos en, 547, 548*f*, 550-551, 550*f*, 551*f*
  enlaces *O*-glucosídicos en, 547, 548*f*, 549-550
  extracelulares, pinocitosis absortiva de, 475
  función de plegamiento de la proteína, 551-552
  funciones de, 546, 547*c*, 553-554
  importancia biomédica de, 546
  información biológica codificada en, 546
  microfibrillas asociadas a, 547
  monosacáridos encontrados comúnmente en, 548*c*
  producción de galactosa para, 187-188, 189*f*
  purificación de, 547
  rápidamente reversible, 552-553
  regulación de, 552
  síntesis de, 549-551, 551*f*
  trastornos que implican, 554-555
glucoquinasa, 158, 164, 165*f*, 726
mutación del gen de, 726*c*
regulación de la glucosa en sangre por, 178-179, 179*f*
glucosa
  absorción de, 520, 520*f*
  CNS y requerimiento de eritrocitos para, 136
  como combustible metabólico, 130, 136
  como el monosacárido más importante, 142
  conversión de galactosa a, 187-188, 189*f*
  en células cancerosas, 695-696, 697*f*, 698*c*
  en glucoproteínas, 548*c*
  en la vía de la pentosa fosfato. *Véase* coeficiente de permeabilidad de la vía de pentosa fosfato de, 463*f*
  en líquido extracelular e intracelular, 460*c*
  estructura de, 142, 142*f*
  importancia biomédica de, 141, 144*c*
  isomería de, 142-143, 143*f*, 144*f*
  niveles en sangre de. *Véase* glucosa en sangre
  regulación de la insulina de, 136-138, 158
  ruptura de. *Véase* glicólisis
  síntesis de ácidos grasos de, 153-155, 155*f*
  síntesis de amino azúcares de, 188, 190*f*
  síntesis de. *Véase* gluconeogénesis
  transporte de 473-474, 473*f*

vías metabólicas de, 130, 130f, 131*f*
durante alimentación, 136-138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 138-139, 138*c*, 139*c*
en niveles de tejido y órgano, 132-133, 132*f*, 133*f*
glucosa en sangre
ácidos grasos libres y, 245, 245*f*
aspectos clínicos de, 180-181, 180*f*
fuentes de, 177-178, 178*f*
glóbulos rojos y, 648
glucógeno en mantenimiento de, 164
glucosa oxidasa en la medición de, 64
hemoglobina glucosilada en la medición de, 55, 553
importancia biomédica de, 172
medición de tolerancia a la glucosa en, 180-181, 180*f*
regulación de
la función de glucoquinasa en, 178-179, 179*f*
límites estrechos de, 177
mecanismos hormonales, 178-180, 178*c*, 179*c*
mecanismos metabólicos, 178, 178*c*
umbral renal para, 180
glucosa oxidasa, medición de la concentración de glucosa en plasma, 64
glucosa-1-fosfato
de liberación de glucógeno de, 164, 166, 166*f*
en la glucogénesis, 164, 165*f*
gluconeogénesis y, 173*f*, 174
glucosa-6-fosfatasa
deficiencia de, 335
en la glucogenólisis, 166
en la gluconeogénesis, 173*f*, 174
glucosa-6-fosfato
en la glucogénesis, 164, 165*f*
en la glucólisis, 158, 159*f*
en la gluconeogénesis, 173*f*, 174
en la vía pentosa fosfato, 182-185, 183*f*, 184*f*
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)
caso de estudio, 721-722
deficiencia de, 182, 188-189, 650-651, 650*c*, 651*f*
en la vía pentosa fosfato, 183-184, 183*f*, 184*f*
glucosa-6-fosfato, en la vía del ácido urónico, 186-187, 187*f*
glucosamina (GlcN), 602
glucosamina, 145, 145*f*, 188, 190*f*
glucosaminoglicanos (GAG), 147, 148*f*
amino azúcares en, 145, 145*f*, 188
componentes de, 599, 599*f*, 600*f*
estructuras de, 601-603, 601*f*
funciones de, 603*c*
mucopolisacaridosis y, 603-604, 604*c*
propiedades de, 602*c*
síntesis de, 599-600
glucosano, 145
glucósido, 145
glucósidos, 145
glucósidos cardiacos, 145, 202
glucosilación cotraduccional, 581
glucosilación, 546. *Véase también* glucoproteínas
cotraduccional, 581
de hidroxilisinas, 594
detección por espectrometría de masas de, 28*c*
en diabetes mellitus, 553
rápidamente reversible, 552-553
regulación de, 552
trastornos congénitos de, 615
glucosilceramida, 202, 234, 234*f*, 461
glucosilfosfatidilinositol (GPI), 588
glucosilfosfatidilinositol-anclado a glucoproteínas (anclado a GPI), 548*f*, 549, 552
glucosiltransferasas, 546, 600
glucosuria, 180
glucuronato, 143, 145*f*
conjugación de la bilirrubina con, 312, 312*f*
producción de la vía del ácido urónico de, 186-187, 187*f*
glucuronidación, de xenobióticos, 558
glucurónidos, 182
GLUT. *Véase* transportadores de glucosa GLUT2 (uniporte de glucosa), 473-474, 473*f*
GLUT4 transportador, 245
Glutamato
carboxilación de, 532-533, 533*f*
catabolismo de esqueleto de carbono, 282
en el ciclo del ácido cítrico, 153, 154*f*
formando reacciones de transaminación, 272-273, 273*f*
síntesis de, 264-265, 265*f*
glutamato aminotransferasa, reacción de transaminación de, 273, 273*f*
glutamato deshidrogenasa (GDH)
en el metabolismo del nitrógeno, 273, 274*f*
en la síntesis de aminoácidos, 265, 265*f*
glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa, 285*f*, 286
glutamina sintetasa, 265, 265*f*
fijación de amoniaco por, 274, 274*f*
glutamina, 16*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 282
deaminación de, 274, 274*f*
en ciclo de ácido cítrico, 153, 154*f*
fijación de amoniaco como, 274, 274*f*
niveles circulantes de plasma, 271-272, 271*f*, 272*f*
síntesis de, 265, 265*f*
glutaminasa, 274, 274*f*
en el catabolismo de aminoácidos, 282
glutatión, 21, 21*f*, 558, 713, 721, 721*c*
glutatión peroxidasa, 204, 544
protección hemolítica de, 185-186, 186*f*, 189
selenio en, 114, 185-186, 186*f*
glutatión reductasa, 185, 186*f*, 189, 721, 721*c*
glutatión S-transferasa (GST)
en metabolismo xenobiótico, 558
purificación de proteína de fusión con, 65-66, 66*f*
GMP cíclico (cGMP), 323*f*
como segundo mensajero, 323, 483, 483*c*, 502, 506
síntesis de, 506
GMP, 322*c* cíclico. *Véase* cíclico GMP
conversión de IMP a, 328, 330*f*, 331, 331*f*
PRPP glutamil amidotransferasa regulada por, 330, 331*f*
golpe eléctrico, 615-616, 616*f*
gota, 190, 244, 334, 336*c*
gotas lipídicas, 244, 247
gp 120, 555
GPCR (receptores acoplados a proteína G), 503, 503*f*, 657-658
GPI (glucosilfosfatidilinositol), 588
GPI-anclado a glucoproteínas (glucosilfosfatidilinositol anclado), 548*f*, 549, 552
GPIb-IX-V, en la agregación de plaquetas, 670, 671*f*
gradiente de pH, 576
gradiente de protones, de cadena respiratoria, 121, 122*f*
gramicidina, 14, 472
granulocitos, 656, 659
gránulos de almacenamiento, de plaquetas, 670
gránulos densos, 654
gránulos α, 654
gránulos, 659
grasas, 138*c*, 196. *Véase también* lípidos
griseofulvina, 625
GroEL, 575
grupo sanguíneo, 653-654, 654*f*
grupos cargados, interacciones no covalentes de, 8
grupos de cabeza polar, 461-462
grupos Fe-S, 97-98, 98*f*
grupos funcionales
ácidos débiles que actúan como, 11-12
de aminoácidos, 18-20, 19*f*, 20*f*, 20*c*
grupos no polares, interacciones no covalentes de, 8
grupos polares
enlace de hidrógeno por, 7, 7*f*
interacciones no covalentes de, 8
grupos prostéticos
grupos α-R, de aminoácidos, 20
GSLs. *Véase* glucosfingolipidos
GST. *Véase* glutatión S-transferasa
GTF. *Véase* factores de transcripción generales
GTP, 323, 587, 588
GTPasa, 578-579, 587
guanina, 322*c*
emparejamiento de bases en DNA, 339, 340*f*
emparejamiento de bases en RNA, 342, 343*f*
oxidación de ROS de, 711*f*
vías de rescate de, 332-333
guanosina, 321*f*, 322*c*
en la formación de ácido úrico, 334, 335*f*
vías de rescate de, 332-333

H
haptocorrina, 101
haptoglobina, 631-632, 631*f*
HAT (actividad de histona acetiltransferasa), 513-514
haz de cuatro hélices, 587
Hb Hikari, 397*f*
HbA_{1c} (hemoglobina glucosilada), 55, 553
HbF (hemoglobina fetal), 50-51, 51*f*, 53
HbM (hemoglobina M), 53-54, 397*f*
HbS (hemoglobina S), 54, 54*f*, 397*f*
HBV (virus de la hepatitis B), 703
HDAC (histonas desacetilasas), 89, 690
HDL. *Véase* lipoproteínas de alta densidad
hefaestina, 632-633
helicasas, 362*f*, 363, 363*c*
hélice α
como unidad de estructura secundaria, 35-36, 35*f*, 37*f*
en mioglobina, 48, 48*f*
hélices anfipáticas, 36
Helicobacter pylori, glucanos en unión de, 555
hemaglutinina, influenza, 555
hematoma, 311

hematoporfirina, 308
hemeritrina, centro dihierro de, 97, 97*f*
hemiacetales, 142, 142*f*
hemina, 311
hemo
  biosíntesis de, 305-307, 306*f*, 307*f*, 308*f*, 309*f*, 310
    regulación de, 307-308
    trastornos, 309-311, 310*c*, 311*f*
  catabolismo de, 311-313, 312*f*, 313*f*
  en catalasa, 114
  en Complejo IV, 120, 120*f*
  en hemoglobina, 48-49, 48*f*, 49*f*, 53-54
  en oxidasas, 112
  estructura de, 48, 48*f*, 305, 306*f*
  hierro en, 48-49, 48*f*, 49*f*, 53-54, 95-97
  histidinas en, 48, 48*f*, 54
  importancia biomédica de, 305
  oxidación de, 649-651, 650f, 650*c*, 651*f*
  unión de, 631
hemocianina, cobre en, 100
hemoconexina, 476*f*
hemocromatosis hereditaria, 636, 638*c*, 650
hemocromatosis, 523
  hereditaria, 636, 638*c*, 650
hemofilia, 627
hemofilia A, 678
hemofilia B, 678
hemoglobina (Hb) Hikari, 397*f*
hemoglobina fetal (HbF), 50-51, 51*f*, 53
hemoglobina glucosilada (HbA1c), 55, 553
hemoglobina M (HBM), 53-54, 397*f*
hemoglobina S (HbS), 54, 54*f*, 397*f*
hemoglobina, 629*f*
  ambiente impedido de, 49, 49*f*
  cambios conformacionales tras la oxigenación de, 51-52, 51*f*, 52*f*
  conformaciones patológicas de, 42
  curva de disociación de oxígeno de, 49-50, 49*f*
  estados relajados y tensos de, 49-50
  estructura cuaternaria de, 50-53, 50*f*, 51*f*, 52*f*, 53*f*
  estructura tetramérica de, 50, 50*f*
  estructuras secundarias y terciarias de, 50
  extracorpuscular, unión a haptoglobina de, 631, 631*f*
  glicado, 55, 553
  hem en, 48-49, 48*f*, 49*f*, 53-54
  implicaciones biomédicas de la, 54-55
  importancia biomédica de la, 47-48
  mutaciones de, 53-54, 54*f*
  mutaciones en, 397*f*
  niveles de altura elevados, 53
  propiedades alostéricas de la, 50-53, 50*f*, 51*f*, 52*f*, 53*f*
  puentes salinos en, 52-53
  rotación de, 311
  subunidades de, 50, 50*f*
  transporte de dióxido de carbono por, 52, 53*f*
  unión 2,3-bisfosfoglicerato de, 50*f*, 53, 53*f*
  unión a protones de, 52-53, 53*f*
  unión cooperativa de, 51
  valores de P_{50}, 51, 51*f*
hemoglobinopatía, 359, 360*f*
hemoglobinopatías, 53-54, 54*f*, 651
hemoglobinuria paroxística nocturna, 478*c*, 554, 650*c*, 651
hemojuvelina (HJV), 635
hemolisinas, 651
hemolisis
  alteración de la vía de la pentosa fosfato que conduce a, 188-189
  vía de la pentosa fosfato y la protección glutatión peroxidasa contra, 185-186, 186*f*
hemopexina, 631, 631*f*
hemoproteínas
  ejemplos de, 305, 306*c*
  importancia biomédica de, 305
hemosiderina, 633
hemosiderosis, 633, 636
hemostasia, 654-655
  coagulación. *Véase* del sistema de coagulación
  fases de la, 669
  fibrinólisis. *Véase* fibrinólisis
  importancia biomédica de la, 669
  pruebas de laboratorio de medición, 679
  regulación de trombina en la, 677
heparán sulfato, 595, 599, 601*f*, 602-603, 602*c*
  en la hemostasia y trombosis, 672
heparina, 147, 148*f*, 597, 599, 602*c*, 677-678
  estructura de, 601*f*, 602, 602*f*
  lipoproteínaS y lipasas hepáticas y, 240
heparinas de bajo peso molecular (LMWHs), 677
hepatitis, 150
hiperbilirrubinemia causada por, 315, 315*c*
hepatocarcinoma, 243
hepatocitos
  pinocitosis por, 475
  síntesis de hem en, 306
hepatopatía alcohólica (ALD), 244
hepcidina, 523-524, 523*f*, 635, 636*f*, 637*f*
heptosas, 141, 142*c*
heterocromatina constitutiva, 354
heterocromatina facultativa, 354
heterocromatina, 354
heterodímeros, 38
heterogeneidades regionales, 464
hexapéptido, en la síntesis de albúmina, 630
hexoquinasa, 57, 726
  como etapa generadora de flujo en la glucólisis, 135
  concentración de glucosa en sangre y, 178-179, 179*f*
  en el metabolismo de la fructosa, 186, 188*f*
  en la glucogénesis, 164
  en la glucólisis, 158, 159*f*
  ensayo enzimático acoplado para, 63*f*
  inversión de la reacción catalizada por, 173*f*, 174
  regulación de, 161
hexosa-6-fosfato deshidrogenasa, 184-185
hexosaminas, 145, 145*f*
  síntesis de, 188, 190*f*
hexosas, 141, 142*c*
  de importancia fisiológica, 143, 144*c*
HFS (jarabe con alto contenido de fructosa), 186, 188*f*, 189-190
HGP (proyecto del genoma humano), 3-4, 3*f*
HhaI, 433*c*
hialuronidasa, 603-604
hibridación fluorescente *in situ* (FISH), 441
hibridación *in situ*, 441
hibridación, 341
hibridomas, 643
hidrogenación, acoplamiento de deshidrogenación a, 106, 107f
hidrolasas ácidas, 475
hidrolasas lisosomales, glucoproteína, 554-555
hidrolasas, 57
  éster de colesterilo, 253
hidrólisis
  como reacción de transferencia grupal, 9
  de agua, 9
  de ATP, 107-108, 107*c*, 108*f*
  de GTP unido a GDP, 587
  de triacilgliceroles, 229
hidroperoxidasas, 112, 114
hidroperóxidos, 225, 227*f*
hidroxiapatita, 604-605
hidroxilación
  de prolina, 594
  de xenobióticos, 556-558
  detección de espectrometría de masas de, 28*c*
hidroxilasas, 115
  en la síntesis de cortisol, 486-487
  vitamina C como coenzima para, 539
hidroxilisina, síntesis de, 266, 268*f*
hidroxilisinas, 594
hidroximetilbilano sintasa, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
  deficiencia en, 310, 310*c*
hidroximetilbilano, en la síntesis de hemo, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
hidroxiprolina, 593, 596
  catabolismo de esqueleto de carbono de, 285-286, 285*f*
  síntesis de, 266, 268*f*
hierro
  absorción de, 101, 523-524, 523*f*
  ciclo de transferrina, 633, 634
  conservación de, 632-634, 632*f*, 632*c*
  deficiencia de, 636, 637*c*
  del catabolismo del hemo, 311
  desplazamiento de metales pesados de, 94
  en citocromo oxidasa, 97
  en citocromos P450, 115, 115*f*
  en hemo, 48-49, 48*f*, 49*f*, 53-54, 95-97
  en sulfito oxidasa, 100, 100*f*
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  funciones fisiológicas del, 97-98, 97*f*, 98*f*
  homeostasis intracelular, 634-635, 635*f*, 636*f*, 637*f*
  oxidación de hemo, 649-651, 650*f*, 650*c*, 651*f*
  reciclaje de macrófagos de, 631, 631*f*
  regulación de, 94
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  sobrecarga de, 633, 636, 638*c*
  toxicidad de, 95*c*
hierro férrico
  del catabolismo del hemo, 311
  en el hemo, 53-54, 95-96
hierro ferroso, en hemo, 48-49, 48*f*, 49*f*, 95-96
HIF-1 (factor inducible por hipoxia-1), 696-697
hígado
  absorción de glucosa por, 136-137, 137*f*
  calcitriol síntesis en, 490, 490*f*
  captación de lipoproteína remanente por, 239*f*, 241
  ciclo de ácido cítrico en, 150
  cirrosis de, 243, 244
  citocromos P450 en, 557
  de glucógeno en, 164, 165*c*
  durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
  efectos de fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
  en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*

fallo de, 243
formación y secreción de VLDL en, 242-243, 243*f*
fructosa 2,6-bifosfato en, 176, 177*f*
glucogénesis en, 164-166, 165*f*, 166*f*
glucogenólisis en, 166, 168
graso. *Véase* hígado graso
metabolismo de bilirrubina de, 311-313, 312*f*, 313*f*
metabolismo de carbohidratos inducción y represión enzimática en, 174-175, 175*c*
metabolismo de la vitamina D en, 530-531, 531*f*
metabolismo en ácido graso oxidación y cetogénesis, 210-213, 211*f*, 212*f*, 213*f*
de lípidos, 242
quilomicrones y VLDL, 240
niveles de aminoácidos y, 271-272, 271*f*, 272*f*
papel metabólico de, 132-133, 132*f*
regulación de glucógeno fosforilasa en, 167
regulación de glucosa en sangre por, 178, 178*c*
síntesis de hem en, 306-308
síntesis de proteína plasmática en, 628-629
hígado graso
alcoholismo y, 244
de embarazo, 215
desequilibrio del metabolismo del triacilglicerol e, 243-244
enfermedad no alcohólica del hígado graso, 243
esteatohepatitis no alcohólica, 243
tipos de, 244
hígado graso agudo del embarazo, 215
HindIII, 433*c*
hiperalfalipoproteinemia, familiar, 258*c*
hiperamonemia, 150, 156
causando trastornos del ciclo de la urea, 276-278, 277*c*
hiperbilirrubinemia, 305, 313-314, 313*c*
trastornos metabólicos subyacentes, 314-315, 314*f*, 315*c*
hiperbilirrubinemia conjugada, 313*f*, 313*c*, 314-315
hiperbilirrubinemia no conjugada, 313*c*, 314
hiperbilirrubinemia tóxica, 314
hipercetonemia, 215
hipercolesterolemia familiar (FH), 241, 257, 258*c*, 478, 478*c*, 585*c*
hipercolesterolemia, 226, 237, 241, 257, 258*c*, 478, 478*c*, 585*c*
función de la fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
hipercromicidad de la desnaturalización, 340
hiperesplenismo, 651
hiperfenilalaninemias, 286, 288*f*
hiperglicinemia no cetósica, 283
hiperglucemia, 140, 172
hiperglucinemia, no cetósica, 283
hiperhidroxiprolinamia, 285*f*, 286
hiperhomocisteinemia, suplementos de ácido fólico para, 538
hiperlacticacidemia, 244
hiperlipidemia, 257
hiperlipoproteinemia, 236, 257, 258*c*
hiperlisinemia, 286
hipermetabolismo, enfermedades que causan, 157, 525
hipermetioninemia, 298-299
hiperoxaluria primaria, 283
hiperoxaluria, 283
hiperprolinemia tipo I, 282, 282*f*
hiperprolinemia tipo II, 282, 282*f*, 285*f*, 286
hiperprolinemia, 282, 282*f*, 285*f*, 286
hipertensión, suplementos de ácido fólico para, 538
hipertermia maligna (MH), 618-619, 620c
hipertriacilglicerolemia, 236, 258*c*
función de fructosa, 186, 188*f*, 189-190
hiperuricemia, 334
papel de la fructosa, 189-190
hipoceruloplasmenia, 633
hipófisis anterior, hormonas de, 179
hipoglicin, 207, 215
hipoglucemia, 172, 181
durante el embarazo y en neonatos, 180
inducida por fructosa, 190
oxidación de ácidos grasos y, 207, 214-215
hipolipoproteinemia, 236, 257, 258*c*
hipótesis de reclutamiento, 386
hipótesis del latido cardiaco, 715-716
hipotiroidismo, cardiolipina en, 201
hipouricemia, 335
hipoxantina, 321, 323*f*
vías de rescate de, 332-333
hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa, 334-335, 336*c*
ubicación del gen de, 442*c*
hipoxia, en células cancerosas, 696-697
histamina, 298, 298*f*, 657*f*, 662
histidasa, 282
histidina, 16*c*, 657*f*
catabolismo de esqueleto de carbono, 282, 283*f*
en hemo, 48, 48*f*, 54
híbridos de resonancia de, 18-19, 19*f*
productos especializados de, 298, 298*f*
purificación de proteína de fusión con, 65
histidinemia, 282
histona desacetilasas (HDAC), 89, 690
histona H2AX, 371
histonas H1, 351, 351*f*, 352*f*, 353, 353*c*
modificaciones covalentes de, 87
modificaciones de, 384
histonas H2A, 351, 351*f*, 353
histonas H2B, 351, 351*f*, 353
histonas H3, 351, 351*f*, 353, 353*c*
histonas H4, 351, 351*f*, 353, 353*c*
histonas, 351, 351*f*, 353, 353*c*
historias de casos bioquímicos
alcoholismo, 720
biotina, 724-725
carnitina, 723-724
diabetes mellitus, 719-720, 725-726
glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 721-722
glutatión, 721
HIV. *Véase* virus de la inmunodeficiencia humana
HJV (hemojuvelina), 635
HMG-CoA. *Véase* 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
hojas β, como unidad de estructura secundaria, 36, 36*f*, 37f
hojas β paralelas, 36, 36*f*
homeostasis 82
en ER, 584
hierro intracelular, 634-635, 635*f*, 636*f*, 637*f*
transducción de señal de la hormona y, 500-501, 501*f*
homocarnosina, biosíntesis de, 298, 298*f*, 303
homocarnosinosis, 303
homocisteína, 283, 284*f*
homocistinuria, 283-285, 300
homodímeros, 38
homogenizados dioxigenasa, 115
homogentisato oxidasa, 286, 287*f*
homología, clasificación de proteínas basada en, 34
homólogos, proteína, 61
homopolímero de cola, 434*c*
hormona adrenocortical, colesterol como precursor para, 202
hormona de crecimiento (GH)
localización de genes, 442*c*
receptores para, 482
regulación de la glucosa en sangre, 179
transporte de aminoácidos y 470
hormona paratiroidea (PTH)
almacenamiento de, 497, 497*c*
síntesis de, 494, 495*f*
hormona preproparatiroidea bovina, 495*f*
hormonas
adenilil ciclasa y, 503*c*
almacenamiento y secreción de, 497, 497*c*
aminoácidos precursores de, 18
características de, 483*c*
como segundos mensajeros. *Véase* segundos mensajeros
de tejido adiposo, 244
definición, 480
diversidad química de, 483-484, 484*f*
en la regulación de la glucosa en sangre, 178-180, 178*c*, 179*c*
formas activas de, 484
generación de señal por. *Véase* generación de señal
importancia biomédica de, 500
interacción del receptor de, 500-501, 501*f*
modulación de transcripción por, 511-514, 512*f*, 513*f*, 513*c*, 514*c*
molécula precursora para, 483-484, 484*f*
péptido lipofílico, 482, 483*c*, 546
proteínas de transporte de plasma de, 498-499, 498*c*
pruebas de laboratorio para, 565
receptor de superficie celular de unión a, 482, 483*c*
regulación de difusión facilitada por, 469-470
regulación enzimática por, 86, 135-136, 135*f*
regulación de la lipogénesis por, 247
regulación de la lipólisis por, 245-247, 246*f*
respuesta de estímulo de, 500-501, 501*f*
secreción hepática VLDL y, 242-243, 243*f*
solubles en agua, 482, 483*c*
transducción de señales por, 500-501, 501*f*
unión del receptor intracelular de, 482, 483*c*
vitamina D como, 530- 531, 531*f*
hormonas lipofílicas, 482, 483*c*
hormonas peptídicas, glucoproteínas como, 546
hormonas sexuales, colesterol como precursor de, 202, 249
hormonas solubles en agua, 482, 483*c*
hormonas tiroideas
almacenamiento de, 497, 497*c*
en la síntesis de colesterol, 252-253, 253*f*
en lipólisis, 246, 246*f*
receptores para, 482
regulación de la expresión génica por, 501, 501*f*

síntesis de, 492, 493*f*
transporte de plasma de, 498, 498*c*
horquilla de replicación, 362*f*, 363, 366*f*
horquilla, 342, 343*f*
HpaI, 433*c*, 434*f*
HPLC. *Véase* cromatografía líquida a alta presión
HPV (virus del papiloma humano), 703
HR (recombinación homóloga), 369, 370*f*, 370*c*
HRE. *Véase* elementos de respuesta hormonal
hsp (proteínas de choque térmico), como chaperones, 41, 576
Hsp60, 575
Hsp70, 576
HTS (secuenciación de alto rendimiento), 62-63, 445-446
huesos
componentes de, 604-607, 605*c*, 606*f*
papel de la vitamina K en, 533
trastornos metabólicos y genéticos de, 607, 607*c*
huso mitótico, 624

I
IAP (inhibidores de la apoptosis), 693*f*, 694
ibuprofeno, 216, 226
IC_{50}, 78
ICF (fluido intracelular), 460, 460*c*
ictericia, 313-314, 313*c*
ictericia
hiperbilirrubinemia causante de, 305, 313-314, 313*c*
obstructiva, 242
pruebas de laboratorio para, 566
trastornos metabólicos subyacentes, 314-315, 314*f*, 315*c*
ictericia acolúrica, 313
ictericia colestática, 314
ictericia colúrica, 313-314
ictericia fisiológica, 314
ictericia obstructiva, 242
idiotipos, 642
IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), 237*c*, 241, 254, 257
iduronato, 143, 145*f*
IEF (enfoque isoeléctrico), purificación de proteínas y péptidos con, 26, 27*f*
IgA, 640*c*, 642*f*
IgD, 640*c*
IgE, 640*c*
IGF-1. *Véase* factor de crecimiento insulínico tipo 1
IgG, 640*c*, 641*f*
IgM, 640*c*, 642*f*
IL-1 (interleucina-1), 631
IL-6 (interleucina-6), 635
imatinib, 701-702, 702*c*
immunoprecipitation de cromatina (ChIP), 447, 448*f*
IMP. *Véase* monofosfato de inosina
importinas, 577-578, 578*f*
impulsos nerviosos, 473
inanición, 105
cetosis en, 215
hígado graso e, 244
redirección de triacilglicerol y, 240
vías metabólicas en, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
IncRNA (RNA largos no codificantes), 348, 374, 375*c*
indels, 359, 398
índice de actividad física (PAR), 524
índice glucémico, 145, 520
indol, coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
indometacina, ciclooxigenasas afectadas por, 226
inducción, de síntesis enzimática, 84
inductores gratuitos, 412
inductores, 84
en regulación de la expresión génica, 411
gratuitos, 412
inestabilidad cromosómica (CIN), 692, 692*f*
inestabilidad de microsatélites, 358
en cáncer, 692, 692*f*
inestabilidad genómica, en cáncer, 691-692, 692*f*
infarto de miocardio (MI)
análisis de enzimas en suero después de, 64, 65*f*
biomarcadores de, 567
inflamación
desarrollo de cáncer y, 700
funciones de glucoproteína en, 553-554
productos finales de glicación avanzada en, 553
prostaglandinas en, 216
proteínas plasmáticas en, 630-631, 630*c*
inflamasoma, 700
información de transcriptoma, 447
información genética, flujo de, 393-394
ingeniería genética, 432. *Véase también* tecnología del DNA recombinante
inhibición competitiva simple, 77, 77*f*
inhibición no competitiva simple, 77-78, 78*f*
inhibición por retroalimentación, de enzimas, 85-86, 85*f*, 89
inhibidor antiproteinasa, 662
inhibidor de la fibrinolisis activable por trombina (TAFIa), 678*f*, 679
inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), 673
inhibidor de serina proteasas, 638
inhibidor-1, 168, 170
inhibidores
análisis cinético de, 76-79, 77*f*, 78*f*
basados en mecanismos, 76, 78-79
competitivos, 76-78, 77*f*, 78*f*
de activación plaquetaria, 671*f*, 672
de angiogénesis, 697-698
de DNA metiltransferasas, 690
de histonas desacetilasas, 690
de la cadena respiratoria, 112, 118, 123-124, 123*f*, 124*f*
de piruvato deshidrogenasa, 161-163, 162*f*
de tirosina quinasas, 701-702, 702*c*
de trombina, 677-678
del metabolismo del ácido fólico, 537
estrechamente unidos, 78
fármacos que actúan como, 80
irreversibles, 78
no competitivos, 77-78, 77*f*, 78*f*
retroalimentación, 85-86, 85*f*, 89
inhibidores basados en mecanismos, 76, 78-79
inhibidores competitivos, 76-78, 77*f*, 78*f*
inhibidores de la apoptosis (IAP), 693*f*, 694
inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, 495
inhibidores de suicidio, 78-79
inhibidores enzimáticos, análogos de estado de transición, 59
inhibidores irreversibles, 78
inhibidores no competitivos, 77-78, 77*f*, 78*f*
iniciación
en la síntesis de DNA, 363-364, 365*f*, 366*f*
en la síntesis de proteínas, 399-402, 400*f*
en la síntesis de RNA, 375-378, 376*f*, 377*f*
iniciación de cadena, 376*f*, 378. *Véase también* iniciación
iniciadores, de apoptosis, 692-694, 693*f*
inmunidad humoral, 662
inmunidad innata, glucoproteínas en, 554
inmunidad mediada por células, 639
inmunoensayos
inmunogenicidad, 643
inmunoglobulinas, 627, 630*c*
clase de conmutación y, 642
composición de, 639, 640*c*, 641*f*, 642*f*
diversidad de, 641
especificidad de unión de, 640, 643*f*
funciones efectoras específicas de clase, 640-641
inmunoterapia, para el cáncer, 698-700
iones de hidrógeno
en agua 9-13, 12*f*, 13*c*
tasa de reacción en respuesta a, 72-73, 73*f*
Inr (secuencia del iniciador), 380
inserción cotraduccional, 582-583, 582*f*, 583*f*
inserciones de nucleótidos, 397-398, 398*f*
Insig (gen inducido por insulina), 252
insuficiencia cardiaca, 611
cardiolipina en, 201
deficiencia de vitamina B_1 en, 534
insuficiencia pancreática, deficiencia de vitamina B_{12} en, 536
insulina
ácidos grasos libres afectados por, 236, 245
almacenamiento de, 497, 497*c*
en diabetes mellitus, 130, 140
en el transporte de glucosa, 469-470
en glucólisis y regulación de la gluconeogénesis, 175
en la regulación de la lipogénesis, 221-222, 222*f*
en la regulación de la lipólisis, 222, 245-246, 245*f*, 246*f*
en la síntesis de colesterol, 252-253, 253*f*
examen biológico para medir, 719, 720*c*
iniciación de la síntesis de proteína por, 402, 402*f*
localización del gen de, 442*c*
metabolismo del tejido adiposo afectado por, 245
radioinmunoensayo para medir, 719
receptor para, 720*c*, 482
regulación de glucosa en sangre por, 179, 179*c*
regulación de la glucosa por, 136-138, 158
regulación del glucógeno por, 168, 170
secreción de VLDL y, 243
secreción por páncreas de conejo, 726*c*
secuenciación de, 26-27
síntesis de, 493-494, 494*f*
transmisión de señal de cascada de quinasa por, 508, 509*f*
integración específica del sitio, 360
integración, cromosomal, 359-360, 360*f*
integrinas, 554, 658-659, 659*c*
interacciones célula-célula, 459
interacciones de medicamentos, citocromo P450 papel en, 557

interacciones electrostáticas, 8, 340
interacciones hidrofóbicas, 8, 339
en estructuras terciarias y cuaternarias proteínas de, 39
interacciones proteína-DNA
bacteriófago lambda como paradigma, 414-418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
mapeo, 446-447
interacciones proteína-proteína, identificación de, 447, 449*f*
interferones, 662
interleucina-1 (IL-1), 631
interleucina-6 (IL-6), 635
interleucinas, 662, 700
intermediario acil-enzima, 61, 61*f*
intermediarios del estado de transición, 59, 70, 70*f*
acil-enzima, 61, 61*f*
tetradércal, 60, 60*f*
intermediarios glucogénicos, 153
interruptores moleculares, 586
intervalo QT, congénitamente largo, 478*c*
intestinos. *Véase también* absorción
absorción de metales de transición, 101
de monosacáridos absorción en, 520, 520*f*
intolerancia a la lactosa, 519-520
intolerancia hereditaria a la fructosa, 190
intravasación, de células cancerosas, 698, 699*f*
intrones (secuencias intermedias), 356, 357*f*, 361
descripción de, 386
eliminación de la transcripción primaria, 386-388, 387*f*, 388*f*
eliminación de, 386-388, 387*f*, 388*f*
procesamiento de, 387*f*, 393-394
inulina, 146, 148*f*
ion amonio, pKa de, 13*c*
iones de hidronio, 9-10
iones hidróxido, 9-10
iones metálicos. *Véase también* metales de transición
desplazamiento de metales pesados, 93-94
en grupos prostéticos enzimáticos, 58
ionización
de agua, 9-10
de aminoácidos, 18-20, 19*f*, 20*c*
ionización por electroespray, 29-30, 30*f*
ionóforos, 471-472
mitocondriales, 125
IP_3. *Véase* 1,4,5-inositol trisfosfato iproniazida, 300
iPSC (células madre pluripotentes inducidas), 446
IPTG (isopropiltiogalactósido), 412
IRDS (síndrome de dificultad respiratoria infantil), 234
IREG1 (proteína regulada por hierro 1), 632
IRES (sitio de entrada ribosomal interno), 405-406, 406*f*
IRS (sustratos del receptor de insulina), 508, 509*f*
isoaspartil metiltransferasa, 715*f*
isocitrato deshidrogenasa
en ciclo del ácido cítrico, 152, 152*f*
en producción de NADPH, 218, 219*f*, 220*f*
regulación de, 156
isocitrato, en ciclo del ácido cítrico, 151-152, 152*f*
isoenzimas, 61-62
isoleucina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 288, 290, 292*f*, 293, 293*f*, 293*c*
síntesis de, 266-267
isomaltosa, 146*f*, 146*c*
isomerasas, 57
isomería geométrica, de ácidos grasos insaturados, 198, 198*f*
isomerismo
de monosacáridos, 142-143, 143*f*, 144*f*
geométrico, de ácidos grasos insaturados, 198, 198*f*
isomerismo de aldosa-citosa, 143, 144*f*
isomerización cis trans, de enlaces peptídicos X-Pro, 42, 42*f*
isomerización, de proteínas plegables, 41-42, 42*f*
isómeros ópticos, de monosacáridos, 142-143
isoniazida, 559
isopropiltiogalactósido (IPTG), 412
isoprostanos, 204
isotipos, 642
isovaleril-CoA deshidrogenasa, deficiencia de, 290, 292*f*, 293
isquemia, 157, 478

J
jarabes con alto contenido de fructosa (HFS), 186, 188*f*, 189-190

K
k. *Véase* constante de velocidad
K^+. *Véase* potasio
k_{cat}. *Véase* constante catalítica
k_{cat}/Km. *Véase* eficiencia catalítica
K_d. *Véase* constante de disociación
K_{eq}. *Véase* constante equilibrio
kernícterus, 313-314
Km. *Véase* constantes de Michaelis
Ku70/80, 370, 371*f*
KvAP (canal de K^+ regulado por voltaje), 471, 471*f*
kwashiorkor, 263-264, 524-525

L
L-3-hidroxiacil-CoA dehidrogenasa, 209, 209*f*
lactación, requerimiento de glucosa de, 136
lactasa, 56, 520
lactato
en ciclo de ácido cítrico, 154, 154*f*
glucólisis en la producción de, 157, 158*f*, 158*c*, 160
glucosa derivada de, 177, 178*f*
lactato deshidrogenasa
estructura de, 37, 38*f*
reducción de piruvato por, 160
uso diagnóstico de, 64, 64*c*, 65*f*
lactoferrina, 660*c*
lactosa
conversión de galactosa a, 187-188, 189*f*
importancia fisiológica de, 145, 146*f*, 146*c*
metabolismo de, hipótesis del operón y, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
lactosa sintasa, 188, 189*f*
lactulosa, 147*c*
lámina β antiparalela, 36, 36*f*
láminas, 355, 625, 625*c*
láminas basales, 598
láminas de mielina, 473
laminina, 598-599, 599*f*
lanosterol, en la síntesis del colesterol, 250, 251*f*, 252*f*
transporte de fosfato de creatina, 126, 126*f*
transporte de glicerofosfato, 125, 125*f*
transporte de malato, 125-126, 125*f*
transporte de protón, 61, 61*f*
latirismo, 14, 18, 18*c*
LBD (dominio de unión a ligando), 511-512, 512*f*
LCAT. *Véase* lecitina: colesterol aciltransferasa
LCR (regiones de control de *locus*), 424-425
LDL. *Véase* lipoproteínas de baja densidad
L-dopa, 491, 491*f*
lecitina: colesterol aciltransferasa (LCAT), 254
deficiencia familiar de, 258*c*
en degradación y remodelación de fosfoglicerol, 232-233
en metabolismo de HDL, 241*f*, 242
función de apolipoproteína, 238
lecitinas, 200
lectina de unión a manosa (MBL), 643-644, 644*f*
lectinas, 147
proteínas receptoras de manosa 6-fosfato, 554
purificación de glucoproteínas con, 547
lectores de código, 418
Lepore, 359, 360*f*
leptina, 244
lesión tisular
análisis enzimático sérico después, 64, 65*f*
de mioglobinuria después, 54
formación de coágulos de fibrina, 672-673, 672*f*, 673*f*, 673*c*, 674*c*
lesiones del DNA, 712
leucemia mieloide crónica (CML), 701
leucemias, 655, 656, 701
leucina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono, 288, 290, 292*f*, 293, 293*f*, 293*c*
síntesis de, 266-267
leucocitos
comunicación a través de efectores, 662
motilidad de, 657-659, 657*f*, 658*f*, 659*c*
múltiples tipos de, 656-657, 657*f*
renovación de, 708*c*
selectinas de, 553-554
leucocitos polimorfonucleares, 657
leucodistrofia metacromática, 235*c*
leucopenia, 656
leucotrieno A_4, 198*f*
leucotrieno B_4, 227
leucotrienos (LT), 197, 198, 198*f*, 216, 662
significado clínico de, 224, 227
vía lipoxigenasa en la formación de, 225, 225*f*, 227*f*
leucovorina, 537
levadura, fermentación por extracto libre de células, 1-2
ley de Coulomb, 7
L-gulonolactona oxidasa, 186
L-homoarginina, 18, 18*c*
liasas, 57
ligadura de extremo adhesivo, 434-435
ligadura de extremos romos, 434-435
ligandina, 312, 558
ligasa E_3, 84-85

ligasas, 57
DNA, 363*c*, 364
ubiquitina, 584, 585*f*
línea Z, 612, 612*f*, 613*f*
LINE (elemento nuclear intercalado largo), 357-358
linfocitos B, 639, 662
linfocitos de orientación, función de glucoproteína en, 553-554
linfocitos T, 639, 656, 662
linfocitos, 657, 662
lipasa hepática
deficiencia de, 258*c*
en captación remanente quilomicrones, 240-241, 241*f*
metabolismo de, 240
lipasa pancreática, 521
lipasas
en el metabolismo de triacilglicerol, 229, 244-245, 245*f*
hidrólisis de triacilglicerol, 521
la insulina y, 245
uso diagnóstico de, 64*c*
lipidación de proteínas, 463
lipidómica, 3, 447
lípidos. *Véase también* ácidos grasos; glucolípidos; fosfolípidos; esteroides; triacilgliceroles
anfipáticos, 204-205, 205*f*
ciclo fútil de, 525
como combustible metabólico, 130, 136
complejo, 196
daño del radical libre a, 541-542, 542*f*
de clasificación de, 196
derivados, 196
digestión y absorción de, 520-521, 522*f*
en membranas. *Véase también* lípidos de membrana
anfipáticos, 461-462, 461*f*
artificial, 465
asimetría y, 464, 589, 589*f*
asociación de proteínas con, 463
proporción de proteína a, 460-461, 460*f*
importancia biomédica de, 196
metabolismo de, en el hígado, 242-243, 243*f*
neutral, 196
peroxidación de, 203-204, 204*f*, 710, 711*f*
precursor, 196
simple, 196
solubilidad de, 196
transporte y almacenamiento de
aspectos clínicos de, 243-244
como lipoproteínas, 237-238, 237*c*, 238*f*
deficiencia de ácidos grasos y, 225
hígado en, 242-243, 243*f*
importancia biomédica de, 236-237
lipogénesis y, 247
lipólisis y, 246, 246*f*
perilipina y, 247
tejido adiposo marrón y, 247, 247*f*
tejido adiposo y, 244-245, 245*f*
trastornos asociados con anormalidades de, 478
vías metabólicas de, 130-131, 130*f*, 131*f*
durante alimentación, 137-138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 138, 138*c*
en los niveles de tejido y órgano, 133, 133*f*
lípidos anfipáticos
en las lipoproteínas, 237-238, 238*f*
en membranas, 204-205, 205*f*, 461-462, 461*f*
lípidos complejos, 196
lípidos de membrana
bicapas de, 462-463, 462*f*
colesterol en, 461
esteroles en, 461
fosfolípidos en, 199-201, 200*f*, 461, 461*f*
glucoesfingolípidos en, 461
rotación de, 589
lípidos neutros, 196
lípidos simples, 196
lipidosis (trastornos de almacenamiento de lípidos), 234-235, 235*c*
lipinas, 230, 231*f*
lipoamida, 161, 162*f*
lipogénesis, 132, 133
acetil-CoA para, 218-219, 219*f*, 220*f*
complejo ácido graso sintasa en, 217-218, 217*f*, 218*f*
etanol y, 244
NADPH para, 218, 220*f*
producción de malonil-CoA en, 217, 217*f*
regulación de
enzimas en, 217-218, 221, 221*f*, 222*f*
estado nutricional en, 220
mecanismos a corto y largo plazo en, 220-222, 221*f*, 222*f*
tejido adiposo y, 247
vía principal para, 216-217
lipólisis, 133
de triacilglicerol, 229
inhibición de insulina, 222
lipasa en, 244-245, 245*f*
regulación de la hormona, 245-247, 246*f*
lipoproteína (a) exceso, familiar, 258*c*
lipoproteína lipasa, 133
deficiencia familiar de, 258*c*
función de apolipoproteína, 238
hidrólisis por, 240, 240*f*
lipoproteínas de alta densidad (HDL), 237, 237*c*
apolipoproteínas de, 238
aterosclerosis y, 242, 257
deficiencia familiar de, 258*c*
eliminación del colesterol por, 249
metabolismo de, 241-242, 241*f*
receptor para, 238, 241*f*, 242
relación LDL a, 257
síntesis de, 241, 241*f*
lipoproteínas de baja densidad (LDL), 237, 237*c*
apolipoproteínas de, 238
aterosclerosis y, 241, 257
endocitosis de, relación 475
HDL a, 257
metabolismo de, 240*f*, 241
productos finales de glucación avanzada y, 553
receptores para. *Véase* receptor LDL
regulación de, 253
suministro de colesterol con, 249
lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), 237*c*, 241, 254, 257
lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), 133, 138, 237*c*
aterosclerosis y, 257
efectos de fructosa sobre, 186, 188*f*, 189-190
en el transporte de lípidos, 236-237
en la regulación de la cetogénesis, 214
en transporte de triacilglicerol, 238-239, 239*f*, 240*f*
hígado graso y, 244
metabolismo de, 240-241, 240*f*
restos, 241, 254
secreción hepática de, 242-243, 243*f*
lipoproteínas miscibles en agua, 236
lipoproteínas, 34, 133, 133*f*, 628, 630*c*
apolipoproteínas en, 237*c*, 238
carbohidratos en, 147
clasificación de, 237, 237*c*
deficiencia de, hígado graso y, 244
efectos de la fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
en transporte de colesterol, 253-254, 255*f*
estructura de, 237-238, 238*f*
formación de, 236
remanente, 237*c*, 240*f*, 241
trastornos de, 257, 258*c*
vitamina E en, 532
liposomas
lípidos anfipáticos que forman, 204-205, 205*f*
membranas artificiales y, 465
lipoxigenasa, 225, 227*f*
especies reactivas producidas por, 204
lipoxina A_4, 198*f*
lipoxinas (LX), 197, 198, 198*f*, 216, 224, 225
importancia clínica de, 227
vía lipoxigenasa en la formación de, 225, 225*f*, 227*f*
lisil hidroxilasas, 43, 266, 593, 596, 596*c*
lisil oxidasa, 43, 594, 596
cobre en, 100
lisina acetiltransferasas, 89
lisina hidroxilasa, vitamina C como coenzima para, 539
lisina, 16*c*, 286, 288*f*
lisofosfatidilcolina, 201, 201*f*, 232-233, 233*f*
lisofosfolipasa, 232, 233*f*
lisofosfolípidos, 201, 201*f*, 478
lisolecitina, 201, 201*f*, 232-233, 233*f*, 241*f*, 242
lisosomas
en endocitosis, 474
fallos en la dirección de las enzimas, 554
hidrólisis del glucógeno por, 166
señales de clasificación de proteínas en, 573, 574*c*, 660*c*
lisosomas primarios, 474
lisosomas secundarios, 474
lisozima
estructura de, 37*f*
LMWH (heparinas de bajo peso molecular), 677
locus operador, 411*f*, 412
longevidad *versus* esperanza de vida, 707-708
LRP-1 (proteína relacionada con el receptor LDL-1), 238, 239*f*, 241
L-triptófano dioxigenasa, 115
LTs. *Véase* leucotrienos
luxación, 584
luz ultravioleta (UV), 712, 713*f*
absorción de aminoácidos, 20, 20*f*
absorción de nucleótidos, 321
daños en el DNA causados por, 370*f*, 370*c*
efecto carcinogénico de, 683, 683*c*
luz, fuente de energía en el transporte activo, 472
LX. *Véase* lipoxinas
L-α-aminoácidos
absorción de luz ultravioleta por, 20, 20*f*
absorción de, 521, 523
carga neta de, 18-19, 19*f*

catabolismo de
alanina, 283
aminoácido–oxidasa en, 273-274, 274*f*
amoniaco del, 269, 272-275, 274*f*
arginina y ornitina, 282-283
asparagina y aspartato, 281-282
cistina y cisteína, 283-285, 284*f*
destinos de los esqueletos de carbono en, 281, 281*f*, 281*c*
enfermedades metabólicas de, 280-281, 293, 294*c*
fenilalanina, 286, 288*f*
glicina, 282-283, 284*f*
glutamato deshidrogenasa en, 273, 274*f*
glutamina sintetasa en, 274, 274*f*
glutamina y glutamato, 282
glutaminasa y asparaginasa en, 274, 274*f*
hidroxiprolina, 285-286, 285*f*
histidina, 282, 283*f*
importancia biomédica de, 269, 280-281
iniciación de, 281
isoleucina, leucina y valina, 288, 290, 292*f*, 293, 293*f*, 293*c*
lisina, 286, 288*f*
metionina, 288, 290*f*, 291*f*
para intermediarios de la biosíntesis de carbohidratos y lípidos, 281, 281*f*, 281*c*
productos finales de, 272, 275, 275*f*
prolina, 282, 282*f*
reacciones de transaminación en, 272-273, 273*f*, 281
serina, 283, 284*f*
síntesis de urea en, 272-273, 272*f*, 273*f*, 275-276, 275*f*
tasa de, 269-270
tirosina, 286, 287*f*
trastornos de, 276-278, 277*c*
treonina, 285, 285*f*
triptófano, 286-288, 289*f*, 290*f*
cetogénicos, 136
como combustible metabólico, 130, 136
conservación catalítica, 61
conversiones biosintéticas de
alanina, 296-297
arginina, 297, 297*f*, 301, 302*f*
cisteína, 297, 297*f*
fosfoserina, fosfotreonina y fosfotirosina, 300
glicina, 298, 298*f*, 300-301, 302*f*
histidina, 298, 298*f*
importancia biomédica de, 296
metionina, 298-299, 299*f*, 300*f*, 301, 302*f*
serina, 300
tirosina, 300, 302*f*
triptófano, 300, 301*f*
deficiencia de, 263-264
desaminación de, 133
determinación de secuencias de
espectrometría de masas para, 28-30, 28*c*, 29*f*, 30*f*
genómica y, 28
proteómica y, 30-31
reacción de Edman para, 27-28, 27*f*
técnicas de biología molecular para, 28
técnicas de purificación para, 23-26, 25*f*, 26*f*, 27*f*
trabajo de Sanger en, 26-27
enlaces peptídicos entre, 20
esenciales, 14, 131, 264, 264*c*, 526
especificación del código genético, 15, 15*c*-16*c*, 17*c*, 394, 394*c*
estereoquímica de, 17
estructuras primarias de proteína y péptido y, 20-21
extraterrestres, 17-18
funciones metabólicas de, 18
glucogénicos, 136, 272, 272*f*
glucosa derivada de, 177
grupos funcionales de, 18-20, 19*f*, 20*f*, 20c,
hidrofóbicos e hidrofílicos, 17*c*
importancia biomédica de, 14
inusual, 21, 21*f*
modificaciones postraduccionales de, 15, 17, 17*f*
de aminoácidos, 15, 17, 17*f*
de colágeno, 594-595, 594*c*
de histonas, 351, 353*c*
de proteínas de membrana, 589
detección de espectrometría de masas de, 28, 28*c*
en maduración de proteína, 42-44, 43*f*
importancia biomédica de las, 33
polinucleótidos, 325
niveles circulantes en el plasma de, 271-272, 271*f*, 272*f*
no esenciales, 131, 264, 264*c*, 526
para mantenimiento de la salud, 3
pI de, 19
pK_a de, 19-20, 20*c*
pK_a valores de, 15*c*-16*c*
planta tóxica, 18, 18*c*
propiedades de, 15-18, 15*c*-16*c*, 17*f*, 17*c*, 18*c*
proteasa y peptidasa, generación de, 270-271, 270*f*, 271*f*
reacciones químicas de, 20
acoplamiento de, 106-107, 106*f*, 107*f*, 109
cambios de energía libre de. *Véase* energía libre
catálisis de. *Véase* catálisis
equilibrio de, 69, 71-72
estados de transición de, 69-70, 70*f*
mecanismos de, 69
multisustrato, 79, 79*f*, 80*f*
reversibilidad de, 69
tasa limitante, 84
tasa de. *Véase* tasa de reacción
requisitos nutricionales para, 525-526
selenocisteína como 21o., 15, 17, 17*f*
síntesis de
alanina y aspartato, 265, 265*f*
asparagina, 265, 266*f*
ciclo del ácido cítrico papel en, 153-154, 154*f*
cisteína, 265, 267*f*
glicina, 265, 266*f*
glutamato, 264-265, 265*f*
glutamina, 265, 265*f*
hidroxiprolina e hidroxilisina, 266, 268*f*
importancia biomédica de, 263-264
prolina, 265, 267*f*
selenocisteína, 267-268, 268*f*
serina, 265, 266*f*
tirosina, 266, 267*f*
valina, leucina e isoleucina, 266-267
vías largas de, 264, 264*c*
solubilidad de, 20, 20*f*
vías metabólicas de, 130-131, 130*f*, 131*f*
a nivel tisular y orgánico, 132-133, 132*f*, 133*f*
durante alimentación, 137*f*, 138, 138*c*
en ayuno, 138, 138*c*
L-β-metilaminoalanina, 18, 18c

M
mAb (anticuerpos monoclonales), 642-643, 697-698, 702, 702*c*
MAC (complejo de ataque de membrana), 643
macrófagos, 656, 657, 660, 662
reciclaje de hierro por, 631, 631*f*
macromoléculas
importación de mitocondrias, 576, 577*f*, 577*c*
transporte celular de, 474-475, 474*f*, 475*f*
transporte del núcleo celular, 575*f*, 576-579, 577*c*, 578*f*
maduración cisternal, 588
magnesio (Mg^{2+})
en fluido extracelular e intracelular, 460, 460*c*
porfirinas que contienen, 305
malaria, papel de glucano en, 555
malato
en ciclo de ácido cítrico, 152*f*, 153
en lipogénesis, 218, 220*f*
malato deshidrogenasa, en ciclo de ácido cítrico, 152*f*, 153
MALDI (desorción e ionización láser asistida por matriz), 29-30, 30*f*
malignidad. *Véase* cáncer
malonato, 77, 123
malonil acetil transacilasa, 217, 217*f*, 219*f*
malonil-CoA
en la síntesis de ácidos grasos, 217, 217*f*
regulación CPT-I por, 213-214, 214*f*
maltasa ácida, hidrólisis del glucógeno por, 166
maltosa, importancia fisiológica de, 145, 146*f*, 146*c*
manganeso
estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
funciones fisiológicas de, 98
requerimiento humano de, 93, 93*c*
toxicidad de, 95*c*
manosa 6-fosfato, 554
manosa, 143, 144*f*, 144*c*, 548*c*
manosa-6-fosfato, 475, 574*c*
manosamina, 145, 188, 190*f*
manosidosis, 554-555
mapa de restricción, 434-444
marasmo, 105, 263-264, 524-525
mastocitos, 602, 656, 662
MAT (metionina adenosiltransferasa), 298, 299*f*
matrices génicas, 31
matriz de metaloproteinasas (MMP), 698
matriz extracelular (ECM). *Véase también* óseo
colágeno. *Véase* colágeno
elastina, 596, 597*c*
fibrilinas, 597, 597*f*
fibronectina, 595, 597-598, 598*f*
glucosaminoglicanos. *Véase* glucosaminoglicanos
importancia biomédica de la, 592
laminina, 598-599, 599*f*
proceso de envejecimiento y, 592
proteoglicanos. *Véase* proteoglicanos
matriz mitocondrial, 576, 577*f*
matriz, mitocondrial, 118, 118*f*, 151

MBL (lectina de unión a manosa), 643-644, 644*f*
MBP (proteína de unión al manano), 643
MDR (resistencia a múltiples fármacos), 478
mecanismo de cambio de unión, de ATP sintasa, 121, 122*f*
mecanismo de ping-pong, en difusión facilitada, 469, 469*f*
mecanismo de reparación del DNA, 559
mecanismos de reparación molecular, teoría del desgaste en el envejecimiento
  daños a proteínas, 714-715, 715*f*
  mecanismos de corrección y reparación, 713-714
  mecanismos enzimáticos y químicos, 713
  proteínas agregadas, 715
mecanismos de reparación y revisión de DNA, 713-714
mecanismos epigenéticos, control de transcripción génica y, 419-420, 420*f*, 421*f*
mecanismos químicos y especies de oxígeno reactivo, 713
medicamentos antiinflamatorios no esteroideos
  ciclooxigenasa afectados por, 226
  síntesis de prostaglandinas y, 216, 226
medicina
  impacto del proyecto del genoma humano sobre, 3-4, 3*f*
  impactos de la investigación bioquímica sobre, 2-3
  importancia bioquímica para, 1
  interrelación bioquímica con, 2, 2*f*
  personalizada, 432
medicina forense, 445
medicina personalizada, 432
medicina preventiva, impacto de investigación bioquímica en, 2-3
médula ósea
  síntesis de hem en, 306
  trasplantes de, 235
MELAS (encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y accidente cerebrovascular), 126
melatonina, conversión de triptófano a, 300, 301*f*
membrana doble, de mitocondrias, 118, 118*f*
membrana externa, de mitocondrias, 118, 118*f*
membrana glomerular, 598
membrana interna, de la mitocondria, 118, 118*f*, 119*f*
  permeabilidad selectiva de, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
membrana mitocondrial externa, 576
membrana mitocondrial interna, 576
membrana plasmática, 459. *Véase también* membranas
  asimetría de, 589, 589*f*
  colesterol en, 461
  estructuras especializadas de, 466, 466*f*
  glucoesfingolípidos en, 461
  glucoproteínas ancladas a, 552
  mutaciones en, enfermedades causadas por, 478, 478*c*
membranas
  afectación de la fluidez, 465-466
  aparato de Golgi en la síntesis de, 574
  artificiales, 465
  asimetría de, 460, 464, 589, 589*f*
  cambios de fase de, 465-466
  de glóbulos rojos, 651-653, 651*f*, 652*f*, 652*c*
  despolarización de, en la transmisión de impulsos nerviosos, 473
  estructura de
    asimetría y, 464
    lípidos en, 204-205, 205*f*, 461-463, 461*f*, 462*f*
    modelo de mosaico fluido de, 465-466, 466*f*
    proteína: relación de lípidos en, 460-461, 460f
  importancia biomédica de, 459
  intracelular, 460
  mitocondrial, 118, 118*f*, 119*f*, 576, 577*f*
  permeabilidad selectiva de, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
  montaje de, 574, 588-590, 589*f*, 590*c*
  selectividad de, 467*c*. *Véase también* transportadores y sistemas de transporte
    aquaporinas, 472
    canales iónicos, 470-471, 470*f*, 471*f*, 471*c*
    difusión facilitada, 469-470, 469*f*
    difusión pasiva, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*, 468*c*
    ionóforos, 471-472
    mecanismos de, 467-468
    transportadores, 468-469, 468*f*, 469*f*
  transmisión de señal a través, 459, 467*c*, 475-476
  uniones gap, 459, 476, 476*f*
membranas artificiales de, 465
membranas celulares
  carbohidratos en, 147
  vitamina E en, 532
membranas intracelulares, 459
menadiona, 528*c*, 532-533, 533*f*
menaquinonas, 528*c*, 532-533, 533*f*
MEOS (sistema oxidante microsomal de etanol), 244
mercurio, toxicidad de, 93-94
meromiosina, 614
merosina, 598, 623*f*
MET (equivalente metabólico), 524
metabolismo de medicamentos, 80
  acetilación y metilación, 558-559
  conjugación, 558
  hidroxilación, 556-558
  papel de citocromo P450 en, 115-116, 115*f*, 116*f*, 556-558
metabolismo de acilglicerol
  acilación de triosa fosfatos, 230, 230*f*
  aspectos clínicos de, 234-235, 235*c*
  ceramida en, 233-234, 233*f*, 234*f*
  fosfatidato en, 230-232, 231*f*, 232*f*
  fosfolipasas en, 232-233, 233*f*
  hidrólisis, 229
  importancia biomédica de, 229
metabolismo, 106
  aspectos clínicos de, 139-140
  ciclo del ácido cítrico como vía pivotal en, 153-156, 154*f*, 155*f*
  CNS y requerimientos de glucosa en eritrocitos y, 136
  combustibles interconvertibles en, 136
  de cambios de energía libre. *Véase* bioenergética
  durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
  efectos de la fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
  en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
  en células cancerosas, 695-696, 697*f*, 698*c*
  errores congénitos de, 2
  fármaco. *Véase* metabolismo de fármacos
  funciones de aminoácidos en, 18
  importancia biomédica de, 129-130
  nivel de tejidos y órganos de, 132-133, 132*f*, 133*f*
  nivel subcelular de, 132, 134, 134*f*
  normales, 129
  nucleófilos y electrófilos en, 8
  reacciones de transferencia grupal en la, 9
  regulación de. *Véase* regulación metabólica
  regulación del flujo de metabolitos a través de, 135-136, 135*f*
  requisitos de energía para, 129-130
  vías para procesar productos de la digestión, 130-131, 130*f*, 131*f*, 132*f*
metabolitos, flujo de, 83, 83*f*, 89, 135-136, 135*f*
metabolómica, 3, 447, 564
metacrilil-CoA, catabolismo de, 292*f*, 293*f*
metahemoglobina reductasa, 54
metahemoglobina, 53-54, 649
metahemoglobinemia, 649, 650*c*
metales de transición
  de transición y transporte de, 101
  importancia biomédica de, 92
  toxicidad de metales pesados y, 93-94
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  propiedades de ácido de Lewis, 93
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*, 95
  en complejos organometálicos, 95-97, 95*f*, 96*f*, 96*c*, 97*f*
  oxidación de, 93, 94f, 94*c*
  funciones fisiológicas de, 97-101, 97*f*, 98*f*, 99*f*, 100*f*
  toxicidad de, 94-95, 95*c*
metales pesados, toxicidad de, 93-94
metaloenzimas, 58
metaloproteínas, 34
  funciones fisiológicas de, 97-101, 97*f*, 98*f*, 99*f*, 100*f*
  metales de transición en, 95-97, 95*f*, 96*f*, 96*c*, 97*f*
metano monooxigenasa, hierro en, 97
metástasis
  anomalías de membrana y, 478*c*
  mecanismos de, 698, 699*f*, 700*c*
  papel del microambiente tumoral en, 694-695, 695*f*
meteoritos, aminoácidos extraterrestres en, 17-18
metilación
  de histonas, 351, 353*c*
  de residuos de desoxicitidina, 418-419
  de xenobióticos, 558-559
  detección de espectrometría de masas de, 28*c*
  regulación enzimática por, 86-87
metilasas de secuencia específicas de DNA, 433
metilmalonil-CoA mutasa, 174, 174*f*, 536
metilmalonil-CoA racemasa, 174, 174*f*
metilxantinas, 246
metionil-tRNA (met-tRNA), 399, 400*f*
metionil-tRNA, iniciador 399, 400*f*
metionina, 16*c*
  catabolismo de esqueleto de carbono, 288, 290*f*, 291*f*
  en S-adenosilmetionina, 323*f*, 324*c*
  productos especializados de, 298-299, 299*f*, 300*f*, 301, 302*f*
metionina adenosiltransferasa (MAT), 298, 299*f*

metionina sintasa, dependencia de la vitamina B_{12} de, 536, 536*f*, 538
método de terminación de cadena, 439, 440*f*
método enzimático manual de Sanger, 439, 440f
metotrexato, 333-334, 537
met-tRNA (metionil-tRNA), 399, 400*f*
mevalonato quinasa, 251*f*
mevalonato, síntesis de, 250, 250*f*, 251*f*
Mg^{2+}. *Véase* magnesio
MH (hipertermia maligna), 618-619, 620*c*
MHC (complejo mayor de histocompatibilidad), 584, 659
MI. *Véase* infarto de miocardio
micelas, 204-205, 205*f*, 462, 462*f*, 521
microalbuminuria, 566
microambiente tumoral (TME), 682, 694-695, 695*f*
microcistina, 14
microfibrillas, 597
microfilamentos, 623-624
microheterogeneidad, de glucoproteínas, 546
micronutrientes. *Véase también* minerales; vitaminas
  almacenamiento de lípidos de, 196
  importancia biomédica de, 527
  metales de transición, 93, 93*c*
  niveles tóxicos de, 527
  requerimientos nutricionales para, 527-528
microRNA (miRNA), 347, 374, 375*c*, 390-391
  en cáncer, 689- 690
  modulación de expresión génica por, 428-429
  transcripción de, 389-390, 390*f*
microsatélites, 358
microscopía crioelectrónica, estructuras de proteínas resueltas por, 40
microscopía electrónica (EM), estructuras de proteínas descifradas por, 40
microscopía, estructuras de proteína resueltas por, 40
microtúbulos, 587, 624-625, 624*f*
microvellosidades, 466
microvesículas, 476
  cáncer y, 690
mielina
  galactosilceramida en, 234
  sulfatida en, 202
mielodisplasia, 649
mieloperoxidasa, 660-661, 660*c*
  de hierro en, 97-98
migración celular, 598, 601
minerales
  digestión y absorción de, 523-524, 523*f*
  funciones de los, 540, 540*f*
  importancia biomédica de los, 527
  para mantenimiento de la salud, 3
  requerimentos nutricionales para, 527-528
mineralocorticoides, síntesis de, 485-486, 486*f*
miocardiopatía dilatada, 622
miofibrillas, 612, 612*f*
mioglobina
  curva de disociación de oxígeno de, 49-50, 49*f*
  estructura secundaria y terciaria de, 50
  hélices α en, 48, 48*f*
  hem en, 48-49, 48*f*, 49*f*
  hierro en, 95-96
  implicaciones biomédicas de, 54
  importancia biomédica de, 47-48
  medio ambiente obstaculizado, 49, 49*f*
mioglobinuria, 54
miopatía mitocondrial infantil fatal y disfunción renal, 126
miopatía, con acidosis láctica, 118
mioquinasa. *Véase* adenilil quinasa
miosina, 611
  en contracción muscular, 613-615, 614*f*, 615*f*
  estructura y función de la, 613-614, 614*f*, 615*f*
  regulación de contracción del músculo liso por, 616-618, 617*f*, 617*c*
miotonía congénita, 620*c*
MIPP (fosfatasa de polifosfato de inositol múltiple), 53
miristoilación, 463
  detección por espectrometría de masas, 28*c*
miRNA. *Véase* microRNA
MIT (monoyodotirosina), 492, 493*f*
Mitocondrias
  actividad enzimática de, 725*c*
  apoptosis en, 712
  ciclo de ácido cítrico en, 134, 134*f*, 151
  citocromos P450 en, 557
  complejos de cadena respiratoria en 118, 119*f*
  daño redox de, 710, 712
  genes codificados por genoma de, 712*c*
  membranas y compartimentos de las, 118, 118*f*
  oxidación de ácidos grasos en, 207-208, 208*f*
  señales de clasificación de proteínas en, 573, 574*c*
  síntesis de proteínas e importación por, 576, 577*f*, 577*c*
  transportadores de intercambio, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
  trastornos genéticos que implican, 126
  β-oxidación en, 208-210, 208*f*, 209*f*, 210*c*
MMP (metaloproteinasas de la matriz), 698
MMR (reparación del desajuste), 369, 370*f*, 370*c*
MOAT (transportador de aniones orgánico multiespecífico), 312
modelado molecular, de estructuras proteicas, 40-41
modelado, de estructuras de proteínas, 40-41
modelo de ajuste inducido, 60, 60*f*
modelo de cadena de DNA
  en la replicación de DNA, 339, 343, 344*f*
  en la síntesis de RNA, 375, 375*f*, 380*f*
modelo de mosaico fluido, 465-466, 466*f*
modelo de operón, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
modelo de unión, en la transcripción, 376*f*
modelos de homología, estructuras de proteínas resueltas por, 41
modificación covalente de histona, 418-419
modificaciones covalentes. *Véase* fosforilación
  carcinógenos causantes, 684
  de histonas, 351, 353*c*
  de piruvato deshidrogenasa, 161-163, 162*f*
  detección de espectrometría de masas de, 28, 28*c*
  en glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 175
  en procesamiento postraduccional de proteínas, 42-43
  regulación enzimática por, 85-90, 88f, 89*c*
  reversibilidad de, 87
moduladores del receptor de estrógeno, 703
moléculas anfipáticas, 8
moléculas de adhesión celular (CAM), 698, 700*c*
moléculas liposolubles, 462
moléculas no lipídicas, 462-463
moléculas quiméricas
  propósito de, 432
  restricción de enzimas para
    escisión de la cadena de DNA con, 433-434, 433*c*, 434*f*, 434*c*
    preparación con, 434-435
moléculas Rab, 587
moléculas solubles en agua, 462
molibdeno
  absorción de, 101
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  funciones fisiológicas de, 100, 100*f*
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  toxicidad de, 95*c*
molibdopterina, 95, 96*f*, 100
monoacilglicerol aciltransferasa, 230, 231*f*
monoaminooxidasa, 300, 301*f*
monocitos, 656, 657
monofosfato de adenosina (AMP), 322*c*, 323*f*
  captura y transferencia de energía por, 107-108, 107*c*, 108*f*
  cíclico. *Véase* AMP cíclico
  ciclos de fosfato de, 109, 109*f*
  conversión IMP a, 328, 330*f*
regulación de la retroalimentación de, 331, 331*f*
  estructura de, 108*f*, 321*f*, 322*f*
  glutamil amidotransferasa PRPP regulada por, 330, 331*f*
monofosfato de guanosina. *Véase* GMP
monofosfato de inosina (IMP)
  conversión a AMP y GMP, 328, 330*f*, 331, 331*f*
  síntesis de, 328-330, 329*f*, 330*f*
monofosfato de orotidina (OMP), 333*f*
monómero de fibrina, 677
mononucleótido de flavina (FMN)
  en citocromos P450, 115, 115*f*
  en complejos de la cadena respiratoria, 118
  en deshidrogenasas, 114
  en oxidasas, 112, 113*f*
  vitamina B_2 en síntesis de, 534
mononucleótidos, 320
  reacciones de "rescate" y 330, 331*f*
monooxigenasas
  citocromos P450 como, 115-116, 115*f*, 116*f*
  xenobióticos hidroxilación por, 556-558
monosacáridos, 141-142, 142*c*
  absorción de, 520, 520*f*
  aminoazúcares, 145, 145*f*
  de importancia fisiológica, 143, 144*c*, 145*f*
  desoxiazúcares, 145, 145*f*
  en glucoproteínas, 547, 548*c*
  glucosa como el más importante, 142
  glucósidos formados a partir de, 145
  isomería de, 142-143, 143*f*, 144*f*
monoubiquitilación, de histonas, 351, 353*c*
  inhibición de la cadena respiratoria por, 112, 118, 123
  monóxido de carbono
  unión hem de, 49, 49*f*
monoyodotirosina (MIT), 492, 493*f*
montaje espontáneo, 594
montaje por etapas, 386

mortalidad y envejecimiento, 708
motivos LXXLL, 514
motivos serina-arginina (SR), 387
movimiento transversal, de lípidos a través de la membrana, 463-464
movimientos de electrones, en transporte activo, 472
mRNA policistrónico, 411
mRNA. *Véase* RNA mensajero
mRNP exportador, 578
mRNP (partículas de ribonucleoproteína), 405, 405*f*, 430
MS. *Véase* espectrometría de masas
MS^2. *Véase* el tándem MS
MS-MS. *Véase* tándem MS
MstII, 433*c*
  en enfermedad de células falciformes, 443, 444*f*
MSUD (enfermedad de la orina de jarabe de arce), 290, 293, 293*c*
MTP (proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal), 242
mucinas, 549
mucolipidosis, 603
mucopolisacaridosis, 592, 603-604, 604*c*
mucoproteínas. *Véase* glucoproteínas
mucosidad, 549
muerte celular programada. *Véase* apoptosis
muerte celular. *Véase* apoptosis
muesca mayor, en DNA, 340*f*, 341
  modelo del operón y, 412
  diseño hélice-espiral-hélice y, 425-426, 426*f*
muesca menor, en DNA, 340*f*, 341
muescas y sellado de muescas, en la replicación del DNA, 367, 367*f*
muestras de orina, 563
muestras de plasma, 563
muestras de sangre, 563
muestras de suero, 563
muestras, para análisis de laboratorio, 563
multiplexinas, 594
mundo RNA, 66-67
músculo
  absorción de glucosa por, 136-137, 137*f*
  actina y miosina en, 613-615, 614*f*, 615*f*
  cardiaco, 619-620, 619*c*, 620*f*
  durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
  en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
  estructura del, 612-613, 612*f*, 613*f*
  glucogénesis en, 164-166, 165*f*, 166*f*
  glucógeno en, 164, 165*c*
  niveles de aminoácidos y, 271-272, 271*f*, 272*f*
  producción de lactato por, 160
  regulación de glucógeno fosforilasa en, 167-168, 169*f*
  regulación de glucógeno sintasa en, 170*f*
  síntesis de ribosa en, 185
  tipos de, 612
  trastornos genéticos de, 621-623, 622*c*, 623*f*, 624*f*
músculo cardiaco, 612
  canales de calcio en, 619-620, 620*f*, 620*c*
  regulación de contracción en, 619, 619*c*
músculo esquelético, 612
  captación de glucosa por, 136-137, 137*f*
  como reserva proteica, 623
  fibras de contracción, 621
  glucógeno, suministros de, 620
  hipertermia maligna de, 618-619, 620*c*
  producción de lactato por, 160
  regulación basada en actina, 619*c*, 616
  retículo sarcoplásmico en, 618, 618*f*
  rol metabólico, 133
músculo estriado, 613*f*, 616, 617*c*, 619
músculo liso, 612, 619*c*
  interacciones actina-miosina en 617, 617*c*
  regulación de la contracción por miosina, 616-618, 617*f*, 617*c*
mutación constitutiva, 411
mutaciones ambientales, 683
mutaciones de cambio de marco de lectura, 397-398, 398*f*
mutaciones pasajero, 701
mutaciones de replicación, 683
mutaciones de supresor, 398-399
mutaciones de transición, 396, 396*f*
mutaciones de transversión, 396, 396*f*
mutaciones del controlador, 701, 703
mutaciones espontáneas, 683
mutaciones genéticas. *Véase* mutaciones, genética
mutaciones hereditarias, 683
mutaciones puntuales, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*, 442, 443*f*
mutaciones silenciosas, 396, 396*f*
mutaciones de sentido erróneo, 396-397, 397*f*, 398*f*, 622
mutaciones de sentido erróneo, 397-398, 398*f*
mutaciones, genética, 350-351
  base de sustitución, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*
  causando daño por radicales libres, 542
  causantes de cáncer, 683, 701, 703
  constitutivas, 411
  conversión de genes y, 361
  de proteínas de membrana, enfermedades causadas por, 478, 478*c*
  de sentido erróneo, 396-397, 397*f*, 398*f*, 622
  familia Alu y, 358, 360
  indeles y, 359
  integración y, 359-360, 360*f*
  intercambios de cromátidas hermanas y, 361, 361*f*
  marco de lectura, 398-399, 398*f*
  papel xenobiótico en, 559, 559*f*
  punto, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*, 442, 443*f*
  recombinación y 399*f*, 359, 359*f*, 360*f*
  silenciosas, 396
  síndrome de Zellweger y, 579-580
  supresoras, 398-399
  terminación prematura, 397*f*
  transición, 396, 396*f*
  transposición y, 360
  transversión, 396, 396*f*
mutagénesis dirigida al sitio, usando estudios enzimáticos, 66

N
n. *Véase* el coeficiente de Hill
Na^+. *Véase* sodio
Na^+-K^+-ATPasa, 472-474, 472*f*, 473*f*
N-acetilgalactosamina (GalNAc), 547, 548*c*, 549
N-acetilglucosamina
  en glucoproteínas, 548*c*
  glucosilación reversible rápidamente con, 552-553
N-acetilglutamato
  en la síntesis de la urea, 275*f*, 276
  en trastornos del ciclo de la urea, 277
N-acetilglutamato deacilasa, en el ciclo de la urea, 276
N-acetilglutamato sintetasa (NAGS)
  defectos en, 277
  en el ciclo de la urea, 276
NAD^+. *Véase* dinucleótido adenina nicotinamida
NADH
  en hígado graso, 244
  producción de oxidación de ácidos grasos, 209, 209*f*
NADH deshidrogenasa, 114
NADH-Q oxidorreductasa (complejo I), 118, 119*f*, 120, 120*f*
  deficiencia de, 126
NADP malato deshidrogenasa, 218, 219*f*, 220*f*
$NADP^+$. *Véase* nicotinamida adenina difosfato
NADPH oxidasa, 660, 660*c*, 661
NADPH, para lipogénesis, 218, 219*f*, 220*f*
NADPH-citocromo P450 reductasa, 557
NADP-unido a deshidrogenasas, 113
NAD-unido a deshidrogenasas, 113
NAFLD (enfermedad del hígado graso no alcohólico), 243
NAGS. *Véase* N-acetilglutamato sintetasa
nanotecnología, 4, 62, 62*f*
NASH (esteatohepatitis no alcohólica), 243
ncRNA. *Véase* RNAs no codificantes
NDP (nucleósidos difosfato) quinasas, 110
necrosis, 693-694
neonatos
  detección de enfermedad metabólica en, 278
  detección de errores congénitos de metabolismo en, 565-566
  hipoglucemia en, 180
  ictericia en, 314
  tirosinemia en, 286, 287*f*
neoplasias, 681-682, 682*f*
NER (reparación por escisión de nucleótidos), 369, 370*f*, 370*c*
nervios mielinizados, ondas de despolarización a lo largo, 196
NES (señales de exportación nuclear), 578
NET-Seq, 447
NeuAc (ácido N-acetilneuramínico), 547, 548*c*
neuraminidasa, influenza, 555
neurofilamentos, 625, 625*c*
neurolatirismo, 18, 18*c*
neuronas, membranas de
  canales iónicos en, 470*f*
  impulsos transmitidos a lo largo, 473
neuropatía sensorial, causante vitamina B_6, 535
neuropatía, vitamina B_6 que causa, 535
neurotransmisores, aminoácidos como, 18
neutrófilos, 656, 657
  en atrapamiento de parásitos, 661, 661*f*
  enzimas y proteínas de, 659, 660*c*
  integrinas en, 658-659, 659*c*
  mieloperoxidasa en, 661
NFκB (factor nuclear kappa-B), 553, 631
N-glucósidos
  confórmeros *syn* y *anti* de, 320-321, 321*f*, 322*c*
  nucleósidos como, 320, 321*f*
NGS (secuenciación de próxima generación), 445-447, 701

NHEJ (unión terminal no homóloga), 369, 370*f*, 370*c*
niacina, 528
  coenzimas de nicotinamida formadas a partir de, 113
  deficiencia de, 528*c*, 534-535
  funciones de la, 528*c*, 534
  necesidad para ciclo del ácido cítrico, 153
  toxicidad de, 535
nicotina, metabolismo del citocromo P450, 557-558
nicotinamida, 58, 58*f*, 534
niños, kwashiorkor en, 525
níquel
  en ureasa, 97, 97*f*
  estados multivalentes de, 93, 94*f*, 94*c*
  funciones fisiológicas del, 100
  requerimiento humano de, 93, 93*c*
  toxicidad del, 95*c*
nitrito, 623
nitrogenasa, 97
nitrógeno, metabolismo de
  amoniaco de, 269, 272-275, 274*f*
  biosíntesis de urea en, 272-273, 272*f*, 273*f*, 275-276, 275*f*
  formas excretadas de, 272, 275, 275*f*
  glutamato deshidrogenasa en, 273, 274*f*
  glutamina sintetasa en, 274, 274*f*
  glutaminasa y asparaginasa en, 274, 274*f*
  oxidasas de aminoácidos en, 273-274, 274*f*
  reacciones de transaminación en, 272-273, 273*f*, 281
  trastornos de, 276-278, 277*c*
nitroglicerina, 611
nivel de actividad física (PAL), 524
NLS (señal de localización nuclear), 574*c*, 577-578, 578*f*
N-metilglicina, 300-301
NMP (nucleósido monofosfato) quinasas, 110
no ambigüedad, de código genético, 394, 394*c*
no superposición de código genético, 395
NO. *Véase* óxido nítrico
nodos de Ranvier, 473
nodularina, 14
noradrenalina. *Véase también* catecolaminas
  regulación de glucógeno por, 167-168
  síntesis, 484*f*, 491, 491*f*
  en termogénesis, 247, 247*f*
  conversión de tirosina a, 300, 302*f*
NPC (complejos de poro nuclear), 577
nucleasa dicer-complejo TRB, 391
nucleasa Drosha-DGCR8, 390-391
nucleasa S1, en tecnología de DNA recombinante, 434*c* S50, 76, 76*f*
nucleasas, 9
  cromatina activa y, 354
  digestión con ácidos nucleicos por, 348
núcleo lipídico no polar, de lipoproteína, 237-238, 238*f*
núcleo lipídico, de lipoproteína, 237-238, 238*f*
nucleófilos
  agua como, 8-10
  definición de, 8
  en catálisis enzimática, 58
nucleoproteínas, empaquetado de, 355, 355*c*, 356*f*
núcleos de células
  señales de clasificación de proteínas en, 573, 574*c*
  transporte de macromoléculas en, 575*f*, 576-579, 577*c*, 578*f*
nucleósido difosfato, química de, 320, 321*f*
nucleósido monofosfato (NMP) quinasas, 110
nucleósido trifosfatos
  análogos no hidrolizables de, 325, 325*f*
  potencial de transferencia del grupo, 324
  química de, 320, 321*f*
nucleósidos difosfato (NDP) quinasas, 110
nucleósidos, 321-323, 322*c*
  importancia biomédica de, 320
  química de, 320, 321*f*
  trifosfatos, 324
nucleosomas, 351, 351*f*, 352*f*, 353
  maquinaria de transcripción y, 384
nucleótidos de aductos, carcinógenos que forman, 684
nucleótidos de azúcar, en la síntesis de glucoproteínas, 549-550
nucleótidos, 322*c*
  absorción de luz ultravioleta por, 321
  análogos sintéticos de, en quimioterapia, 324-325, 324*f*, 325*f*
  biosíntesis de, purinas, 328, 328*f*
  códigos tripletes de, 394, 394*c*
  como ácidos polifuncionales, 321
  dietéticamente no esenciales, 328
  funciones fisiológicas de, 321-323, 323*f*, 324*c*
  importancia biomédica de, 320
  metabolismo de, importancia biomédica de, 327-328
  mutaciones causadas por cambios en, 396-398, 396*f*, 397*f*, 398*f*
  mutaciones de cambio de marco de lectura, 397-398, 398*f*
  mutaciones de sustitución de, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*
  polinucleótidos, 325
  química de, 320, 321*f*
número de rotación, 75
números variables de repeticiones en tándem (VNTR), 445, 549
nutrición
  antioxidantes y. *Véase* antioxidantes impactos de la investigación bioquímica sobre, 2-3
  importancia biomédica de, 519
  lipogénesis regulada por, 220
  requerimientos
    de energía, 129-130, 524-525, 524*f*
    metales de transición, 93, 93*c*
    proteína y aminoácidos, 525-526
    vitaminas y minerales, 527-528
nutrigenómica, 3

O
obesidad, 105, 130, 237, 519, 524
  desarrollo de cáncer y, 700
  lípidos y, 196
  lipogénesis y, 216
obstrucción del árbol biliar, hiperbilirrubinemia causada por, 313*f*, 313*c*, 314-315, 315*c*
obstrucción del conducto biliar, hiperbilirrubinemia causada por, 313*f*, 313*c*, 314-315, 315*c*
octámero de histona, 351, 351*f*, 352*f*, 353
octámeros, histona, 351, 351*f*, 352*f*, 353
oleil-CoA, 223, 223*f*
oligómeros, importación de peroxisomas, 579
oligomicina, 123
oligonucleótidos, síntesis de, 439
oligosacáridos complejos, en glucoproteínas, 550-551, 550*f*
oligosacáridos con alto contenido de manosa, en glucoproteínas, 550-551, 550*f*
oligosacáridos híbridos, en glucoproteínas, 550-551, 550*f*
oligosacáridos, 142, 546, 547*c*, 550-551, 550*f*, 555
oligosacáridos: proteína transferasa, 581
OMP (orotidina monofosfato), 333*f*
oncogén RAS, 685, 685*c*, 687*c*
oncogenes, 685-688, 685*c*, 686*f*, 687*f*, 687*c*, 688*f*, 688*c*
  ciclinas y, 369
  estudios iniciales en, 2
oncología de precisión, 701
oncología, 681, 701
oncoproteínas, proteína Rb y, 369
oncovirus, ciclinas y, 369
operador derecho, 415, 415*f*
operón lac, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
operón, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
opsonización, 659
ORC (complejo de replicación de origen), 362
orden cinético, 71
ORE (elemento de replicación de origen), 362
organismos autotróficos, 107
organismos heterotróficos, 107
órganos, vías metabólicas a nivel de, 132-133, 132*f*, 133*f*
origen de la replicación (ori), 362-363, 362*f*
orina
  bilirrubina en, 313, 315, 315*c*
  glucosa en, 180
  mioglobina en, 54
  urobilinógeno en, 315, 315*c*
  xilulosa en, 189
ornitina
  catabolismo de esqueleto de carbono de, 282, 283*f*
  conversión de arginina a, 297, 297*f*
  en la síntesis de urea, 275-276, 275*f*
ornitina permeasa, defectos en, 277
ornitina transaminasa, 282, 283*f*
ornitina transcarbamoilasa
  defectos en, 277-278
  deficiencia de, 336
  en la síntesis de urea, 275*f*, 276
orotato fosforribosiltransferasa, 333*f*, 334, 336, 336*c*
orotidilato descarboxilasa, 336
orotidinuria, 336
osteoartritis, 592, 604
osteoblastos, 605, 606*f*
osteocalcina, 539
osteocitos, 605
osteoclastos, 605, 606*f*
osteogénesis imperfecta, 43, 264, 607, 607*c*
osteomalacia, 532
osteopetrosis, 607
osteopontina, 605
osteoporosis, 532, 607, 607*c*
O-transferasa *N*-acetilglucosamina, 552-553
ouabaína, 145, 473
oxaloacetato, 134
  asparagina y formación de aspartato, 281-282
  en ciclo del ácido cítrico, 150-154, 151*f*, 152*f*, 154*f*

en gluconeogénesis, 172-173, 173*f*
en lipogénesis, 218-219, 220*f*
oxidación
acoplamiento de fosforilación a, 122-123, 123*c*
acoplamiento de reacción endergónica a, 106-107, 106*f*, 107*f*
de ácidos grasos. *Véase también* cetogénesis aspectos clínicos de, 214-215
en mitocondrias, 207-208, 208*f*
hipoglucemia causada por el deterioro de, 214-215
liberación de acetil-CoA y, 208-210, 208*f*, 209*f*, 210*c*
modificado, 210
regulación cetogénesis y, 213-214, 213*f*, 214*f*
de equivalentes reductores por cadena respiratoria, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*
de hierro hemo, 649-651, 650*f*, 650*c*, 651*f*
de metales de transición, 93, 94*f*, 94*c*
de yoduro, 492
definición de, 111
en la vía de la pentosa fosfato, 183-185, 183*f*, 184*f*
enlaces de sustrato mediadores, 125-126, 125*f*
importancia biomédica de, 111
piruvato. *Véase* el potencial redox de oxidación de piruvato y, 111-112, 112*c*
reacciones de deshidrogenasa, 112-114, 113*f*
reacciones de hidroperoxidasa, 114
reacciones de oxidasa, 112, 112*f*, 113*f*
reacciones de oxigenasa, 111-112, 114-116, 115*f*, 116*f*
reacciones de superóxido dismutasa, 116
β-. *Véase* β-oxidación y oxidación de piruvato, 161-163, 162*f*
inducción y represión de enzimas que catalizan, 174-175, 175*c*
oxidantes clorados, producción de, 662
oxidasas de catecolamina, cobre en, 98-100, 99*f*
oxidasas de función mixta, 115
oxidasas, 112, 112*f*, 113*f*
óxido nítrico (NO), 611, 622-623, 624*f*
conversión de arginina a, 297, 297*f*
en hemostasia y trombosis, 672
óxido nítrico sintasa, 297, 297*f*, 622
oxidorreductasas, 57, 112
estructura de, 37, 38*f*
oxidoscualeno: lanosterol ciclasa, 250, 252*f*
oxiesteroles, 204
oxigenasas, 111-112, 114-116, 115*f*, 116*f*
oxigenasa hem, 311, 312*f*, 631
oxígeno
hemoglobina afinidades para, 51, 51*f*
reducción del complejo IV, 120-121
toxicidad de, 116. *Véase también* especies reactivas de oxígeno
transporte y almacenamiento de, 47
cambios conformacionales de hemoglobina durante, 50-53, 50*f*, 51*f*, 52*f*, 53*f*
cambios de gran altitud en, 53
hem y funciones de hierro ferroso en, 48-49, 48*f*, 49*f*
idoneidad de hemoglobina y mioglobina para, 49-50, 49*f*
implicaciones biomédicas de, 54-55
mutaciones de hemoglobina que afectan el, 53-54, 54*f*
unión a hemoglobina de, 51-52, 51*f*, 52*f*
unión al hemo, 48-49, 48*f*, 49*f*

P
P450scc (enzima de escisión de la cadena lateral del citocromo P450), 485, 485f
P_{50}, 51, 51*f*
p70S6K, 508, 509*f*
p97, 584
PAB (proteína de unión poli(A)), 401, 401*f*, 402*f*
paclitaxel, 625
PAF. *Véase* factor activador de plaquetas
PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida), 26, 26*f*
PAL (nivel de actividad física), 524
paleta, cargada, 471, 471*f*
paletas cargadas, 471, 471*f*
palmitato, 217-218, 219*f*, 220*f*
palmitoilación, detección espectrometría de masas de, 28*c*
palmitoil-CoA, 223
palmitoleoil-CoA, 223
pancreatitis, activación de proteasa en, 87
panproteinasa, 638
PAP (fosfatidato fosfatasa), 230, 231*f*
PAPS (3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato), 322-323, 323*f*, 324*c*, 558, 600
PAR (relación de actividad física), 524
par de cromosomas X, 354
PAR-1. *Véase* proteasa-receptor-1 activado
PAR-4. *Véase* proteasa-receptor-4 activado
parálisis periódica hipercaliémica, 620*c*
parálisis periódica hipocaliémica, 620*c*
paramecio, 660
parásitos, glucanos en la unión de, 555
parche adhesivo, en hemoglobina S, 54, 54*f*
pares de bases (pb), 355
PARP (poli ADP ribosa polimerasa), 371
partícula de reconocimiento de señal (SRP), 580-581, 581*f*, 629
partículas de ensamblaje, 475
partículas de ribonucleoproteínas (mRNP), 405, 405*f*, 430
patología molecular, 590
diseño de dedo de zinc, 426, 426*f*
diseño de reconocimiento de RNA (RRM), 387
diseño hélice-espiral-hélice, 425-426, 426*f*
diseño hélice-lazo-hélice, 36
pBR322, 437, 437*f*
PCR. *Véase* la reacción en cadena de la polimerasa
PCSK9 (proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9), 253
PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), en cáncer, 689, 689*c*
PDH. *Véase* piruvato deshidrogenasa
PDI (proteína disulfuro isomerasa), 584
PDK1 (quinasa dependiente de fosfoinosítido 1), 508
pectina, 509*f*, 147, 148*f*
pelagra, 534-535
penicilamina, para la enfermedad de Wilson, 634
penicilina, 80
pentosas, 141, 142*c*, 143, 144*c*
pentosuria alimentaria, 189
pentosuria esencial, 182, 189
pentosuria, 182, 189
pepsina, 521
pepsinógeno, 521
peptidasa de señal, 581, 581*f*, 629
peptidasas, degradación de proteínas por, 270-271, 270*f*, 271*f*
peptidil prolil isomerasa (PPI), 584
peptidil transferasa, 402, 403*c*
peptidilarginina deiminasa, 661, 661*f*
peptidilglicina hidroxilasa, vitamina C como coenzima para, 539
peptidil-tRNA, 402-403, 403*f*, 403*c*
péptido de señalización, 574
de albúmina, 630
en clasificación de proteína, 574*f*, 576, 577*f*, 580-582, 581*f*, 582*f*
péptido señal N-terminal, 574, 574*f*, 580-582, 580*c*, 581*f*, 582*f*
péptidos
absorción de, 521, 523
aminoácidos inusuales en, 21, 21*f*
como polielectrólitos, 21-22
como precursores de hormonas, 484, 484*f*
como precursores en la síntesis de hormonas, 492-493
conformaciones de, fuerzas no covalentes que afectan, 21
esquemas de la estructura para, 21
estructura de, primaria. *Véase* estructura primaria
importancia biomédica de, 14
L-α-aminoácidos en, 15, 15*c*-16*c*
purificación de
isoelectroenfoque, 26, 27*f*
técnicas cromatográficas, 23-26, 26*f*, 27*f*
electroforesis en gel, 26, 26*f*, 27*f*
secuenciación de. *Véase* secuenciación de proteínas
volatilización de, 29-30, 30*f*
pequeños, RNA reguladores y heterogéneos (RNA), 348
pérdida de peso, dietas bajas en carbohidratos para, 181
perilipina, 247
permeabilidad selectiva
de la membrana mitocondrial interna, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
membrana, 459, 470, 470*f*
peroxidación, de lípidos, 203-204, 204*f*, 710, 711*f*
peroxidasas, 114, 224, 544
peróxido de hidrógeno, 710
eliminación por glutatión peroxidasa de, 114, 185-186, 186*f*
generación por aminoácidooxidasa de, 273
reducción de, 114
peróxidos
lípidos, 541-542, 542*f*
mecanismos que protegen contra, 544, 544*f*
reducción de, 114
peroxinas, 579-580
peroxinitrito, 623
peroxisomas, 114
biogénesis de, 579-580
en el síndrome de Zellweger, 215, 579-580, 580*c*
en la oxidación de ácidos grasos, 210
en la regulación de la transcripción, 513*c*
en la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados, 223*f*

proteínas importadas en, 579, 579*f*
señales en la clasificación de proteínas, 573, 574*c*
trastornos debidos a anormalidades de, 580*c*, 589-590
pesquizaje, para nuevos fármacos, 80
PGE_2 (prostaglandina E_2), 197, 198*f*
PGI_2 (prostaciclina), 670, 671*f*, 672
PGI_2 (prostaglandina I_2), 224
PGI. *Véase* prostaciclinas
PG. *Véase* prostaglandinas
pH
de taponamiento y, 12-13, 12*f*
definición y cálculo de, 10-11
del agua, 10
en células de cáncer, 696
importancia biomédica del, 6
isoeléctrico, 19
pK_a relación a, 11-12
propiedades de aminoácidos y, 19, 19*f*
respuesta de velocidad de reacción a, 72-73, 73*f*
pH isoeléctrico (pI), de aminoácidos, 19
pI. *Véase* pH isoeléctrico
PIC. *Véase* complejo previo a la iniciación
piel
calcitriol síntesis en, 489-490, 490*f*
deficiencia de ácidos grasos esenciales y, 225
enfermedades de, 625
vitamina D síntesis en, 530, 531*f*
pigmentos biliares, importancia biomédica de, 305
pin SNARE, 588
pinocitosis, 474-475, 474*f*
pinocitosis absortiva 474*f*, 475
pinocitosis en fase fluida, 474-475, 474*f*
PiP_2. *Véase* fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato
piridoxal. *Véase* vitamina B_6
piridoxal fosfato (PLP), 273, 273*f*, 535
piridoxamina. *Véase* vitamina B_6
piridoxina. *Véase* vitamina B_6
pirimetamina, 537
pirimidinas
absorción de luz ultravioleta por, 321
análogos sintéticos de, 324*f*
conversión de serina a, 300
derivados de, 320-321, 322*c*
en DNA, 338-339, 339*f*
en RNA, 342, 343*f*
importancia biomédica de, 320
metabolismo de, 335*f*
enfermedades causadas por la sobreproducción de catabolitos y, 336, 336*c*
importancia biomédica de, 327-328
metabolitos solubles en agua de, 335-336, 337*f*
mutación de sustitución de, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*
no esenciales en la dieta, 328
precursores de deficiencia, 336
química de, 320, 320*f*
síntesis de, 328, 332, 333*f*
análogos en, 334
catalizadores en, 332, 333*f*
regulación de, 332, 332*f*, 334, 334*f*
síntesis de purina coordinada con, 334, 334*f*
pirofosfatasa
en la activación de ácidos grasos, 208
en la glucogénesis, 164, 165*f*
en la síntesis de RNA, 378
pirofosfatasa inorgánica, 109, 109*f*
pirofosfato (PP_i)
en la activación de ácidos grasos, 208, 208*f*
en la glucogénesis, 164, 165*f*
en la síntesis de RNA, 378
pirofosfato inorgánico (PP_i), 109, 109*f*
piruvato carboxilasa, 153-154, 154*f*
en gluconeogénesis, 172, 173*f*
regulación de, 175
piruvato deshidrogenasa (PDH)
deficiencia de, 163
en la oxidación de piruvato, 161, 162*f*
inactivación de metales de, 94
regulación de, 89*c*, 155-156, 161-163, 162*f*
acil-CoA en, 221
piruvato quinasa
deficiencia de, 163
en glucólisis, 159-160, 159*f*
inversión de la reacción catalizada por, 172-173, 173*f*
regulación de, 161, 175
piruvato quinasa (PK)
deficiencia de, 650*c*, 651
en células cancerosas, 696, 697*f*
piruvato, 136, 138
en ciclo del ácido cítrico, 153, 154*f*
en gluconeogénesis, 172-173, 173*f*
en reacciones de transaminación, 272-273, 273*f*
inhibición del metabolismo de, 163
producción de glucólisis de, 157, 158*f*, 158*c*, 159-160, 159*f*
PK. *Véase* piruvato quinasa
pK_a
de aminoácidos, 19-20, 20*c*
de los ácidos débiles, 11-13, 12*f*, 13*c*, 19
de L-α-aminoácidos, 15*c*-16*c*
efectos de la estructura molecular sobre, 13, 13*c*
influencia ambiental sobre, 19-20, 20*c*
propiedades medias que afectan, 13
PKA (proteína quinasa A), 504-505, 505*f*
PKC. *Véase* proteína quinasa C
PKU de (fenilcetonuria), 286, 288*f*
plantas, aminoácidos tóxicos de, 18, 18*c*
plaquetas, 646, 654-655, 659*c*
inhibidores de la activación de, 671*f*, 672
plasma, 628
plasmalógenos, 201, 201*f*
biosíntesis de, 230*f*, 232, 232*f*
análisis de enzimas en, 63-64, 64*c*, 65*f*
plásmidos bacterianos, 436, 436*f*
plásmidos, 436, 436*f*, 437*f*
plasmina, 678-679, 678*f*
plasminógeno, 678-679, 678*f*
Plasmodium falciparum, glucanos en la unión de, 555
PLC. *Véase* fosfolipasa C
PLCβ (fosfolipasa Cβ), en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
pleckstrina, en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
plegamiento
de proteínas, papel de la calnexina en, 551-552
proteína, 41-42, 42*f*
plegamiento de proteínas
chaperonas y, 574-575
proteínas mal plegadas, 584-585, 585*f*, 585*c*
plegamiento incorrecto de proteínas
acumulación retículo endoplasmático, 584, 585*c*
ubiquitinación de, 585-586, 585*f*
pliegue de Rossmann, 37
plomo, toxicidad de, 93-94, 306, 309
PLP (fosfato de piridoxal), 273, 273*f*, 535
p-nitrofenil fosfato (pNPP), 63
PNMT (feniletanolamina-*N*-metiltransferasa), 491*f*, 492
pNPP (p-nitrofenil fosfato), 63
pOH, 10
polaridad
de DNA, 339, 340*f*
de microtúbulos, 624
de síntesis de DNA, 364, 366*f*
de síntesis de proteína, 399
poli(A) polimerasa, 389
poliadenilación alternativa, 430
poliADP ribosa polimerasa (PARP), 371, 371*f*
poliaminas, biosíntesis y catabolismo de, 299, 299*f*, 300*f*
policitemia, mutaciones en la hemoglobina que conducen a, 54
polielectrolitos, péptidos como, 21-22
poliisoprenoides, en la síntesis de colesterol, 250-251, 251*f*
polimerasas
DNA. *Véase* DNA polimerasa
RNA. *Véase* RNA polimerasa II; RNA polimerasa
polimerización, de hemoglobina S, 54, 54*f*
polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), 65, 445
polimorfismos de microsatélites, 358, 445-446
polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), 442, 445
polimorfismos, 442
microsatélites, 358, 445-446
proteína plasmática, 629
polinucleótido quinasa, 434*c*
polinucleótidos
como DNA y RNA, 325
como macromoléculas direccionales, 325
funciones de, 321
modificación de, 321, 323*f*
modificación postraduccional de, 325
polioles, 141-142
polipenoides, 203, 204*f*
pólipo, colorrectal, 687-688, 688*f*, 688*c*
pólipos adenomatosos colorrectales, 687-688, 688*f*, 688*c*
polirribosomas libres, síntesis de proteínas en, 583
polirribosomas unidos a la membrana, 580
polirribosomas, 347, 401*f*, 405
hipótesis de señal de unión de, 574, 574*f*
síntesis de proteínas en, 574, 574*f*, 575*f*, 576, 579, 583
unidos a la membrana, 580
polisacáridos, 142
funciones estructurales y de almacenamiento de, 145-147, 147*f*, 148*f*, 148*c*
polisomas. *Véase* polirribosomas
poliubiquitinación, 270
porción hidrofílica de la molécula de lípidos, 205, 205*f*

porciones hidrofóbicas de moléculas de lípidos, 205, 205*f*
porfiria eritropoyética congénita, 310, 310*c*
porfiria inducida por fármaco, 311
porfiria aguda intermitente, 310, 310*c*, 311*f*
porfirias cutáneas, 310*c*, 311
porfirias eritropoyéticas, 310*c*, 311
porfirias hepáticas, 310*c*, 311
porfirias, 305, 310, 311*f*
  clasificación de, 310*c*, 311
  evaluación espectrofotométrica de, 308
  inducida por fármacos, 311
porfirinas
  biosíntesis de, 305-307, 306*f*, 307*f*, 308*f*, 309*f*, 310*c*
    regulación de, 307-308
    catabolismo de, 311-313, 312*f*, 313*f*
    color y fluorescencia de las, 308, 310*f*
    estructura de las, 305, 306*f*
    importancia biomédica de las, 305
porfirinas de hierro, 305. *Véase también* hemo
porfirinógenos
  acumulación de, 310-311
  en la síntesis de hemo, 306-307, 307*f*, 308*f*, 309*f*
  naturaleza incolora de, 308
porfobilinógeno sintasa, 306, 307*f*, 308*f*
porfobilinógeno, en la síntesis de hemo, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
potasio (K^+)
  coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
  en fluido extracelular e intracelular, 460, 460*c*
potenciador del gen del interferón β humano, 422, 423*f*
potenciador SV40 viral, 421, 422*f*
potenciador SV40, 421, 422*f*
potenciadores, en la expresión génica, 410
  estudio de, 420- 421, 422*f*
  expresión específica de tejido de, 423
  gen β-interferón, 422, 423*f*
  propiedades de, 420-422, 422*c*
potenciador-proteínas de unión, 421
potencial de transferencia grupal, 107, 110
  de nucleósido trifosfatos, 324
potencial eléctrico, 576
potencial químico, 105
potenciales redox (E′0)
    cambios de energía libres y, 111-112, 112*c*
    de metales de transición en complejos organometálicos, 95-97
PPI (peptidil prolil isomerasa), 584
PP_i. *Véase* pirofosfato inorgánico; pirofosfato
prasugrel, 672
pravastatina, 257
PRC2 (complejo represivo 2), 419
precisión, de la prueba de laboratorio, 561, 562*f*
precisión, de laboratorio, 561, 561*f*
pregnenolona, 485*f*, 487, 488*f*, 490*f*
prenilación de proteína, 251
preproalbúmina, 588, 588*f*
preprocolágeno, 594
preprohormona, 493
preproproteína, 630
preproPTH, 494, 495*f*
preproteínas, 574
presecuencia, 576
presión hidrostática, 628
presión oncótica (osmótica), 628, 630
presión osmótica (oncótica), 628, 630
prevención de agregación, 581
primaquina, 721
primasas, DNA, 362*f*, 363*c*
primer RNA, en la síntesis de DNA, 362*f*, 362*c*, 363-364, 365*f*, 366*f*
primera ley de la termodinámica, 105-106
pri-miRNA, 390-391, 390*f*
primosoma, 363
PRL. *Véase* prolactina
proalbúmina, 588, 588*f*
procarcinógenos, 556-557, 559, 559*f*, 684
procaspasas, 692-694, 693*f*
procedimiento de recubrimiento Southwestern blot, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia de proteína, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia de RNA, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia de superposición, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia de blot de DNA, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia Northern RNA, 438, 439*f*
procedimiento de transferencia Southern blot del DNA, 438, 439*f*
procedimiento Western blot de proteínas, 438, 439*f*
procesamiento de oligosacáridos, 574
procesamiento nucleolítico, de RNA, 390-391, 390*f*
procesamiento postraduccional, 406
procesos aeróbicos, 151
procesos estocásticos, mortalidad y envejecimiento como, 708
procolágeno, 43, 406, 539, 594
procolágeno carboxiproteinasa, 594
procolágeno suicida, 607
producto iónico, 10
productos
  en ecuaciones químicas equilibradas, 69
  enzima, 57
productos Amadori, 712
productos finales de glicación avanzada (AGE), 553, 553*f*, 712-713
proenzimas, uso de regulación enzimática, 87-88, 88*f*
profármacos, 80
  activación de, 556
progenitores linfoides comunes, 657
progenitores mieloides comunes, 657
progeria, 625
progesterona, 484*f*, 485*f*
  síntesis de, 487, 488*f*, 490*f*
  transporte de plasma de, 498-499, 498*c*
programa de muerte de celulas apoptóticas, 712
programas de acoplamiento molecular, estructuras de proteínas resueltas por, 40-41
progresión tumoral, 688
prohormonas, 406
proinsulina, 493-494, 494*f*
prolactina (PRL)
  localización del gen de, 442*c*
  receptores para, 482
prolil hidroxilasa, 43, 266, 593, 596
prolina *cis*, *trans*-isomerasas, 42, 42*f*
prolina deshidrogenasa, deficiencia de, 282, 282*f*
prolina hidroxilasa, vitamina C como coenzima para, 539
prolina, 16*c*
  catabolismo de esqueleto de carbono de, 282, 282*f*
    en colágeno, 593-594, 596
  síntesis de, 265, 267*f*
promotores bacterianos, en la transcripción, 379, 380*f*
promotores eucariotas, en la transcripción, 379-381, 380*f*, 381*f*, 382*f*, 383
promotores, en transcripción, 376
  alternativa, 388-389, 389*f*
  bacteriana, 379, 380*f*
  eucariota, 379-381, 380*f*, 381*f*, 382*f*, 383
prooxidantes, antioxidantes como, 544-545, 544*c*
propiedades alostéricas, de la hemoglobina, 50-53, 50*f*, 51*f*, 52*f*, 53*f*
propionato
  glucosa derivada de, 177
  metabolismo de, 173*f*, 174, 174*f*, 723*c*
propionil-CoA
  conversión de metionina a, 288, 290*f*, 291*f*
  en ciclo de ácido cítrico, 153, 154*f*
  en la oxidación de ácidos grasos, 209
propionil-CoA carboxilasa, 174, 174*f*
proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9), 253
proproteínas, 43, 87, 406
proPTH, 494, 495*f*
proquimotripsina, activación de, 87-88, 88*f*
PRO-Seq, 447
prostaciclina (PGI_2), 670, 671*f*, 672
prostaciclinas (IGP), 197
  significación clínica de, 226-227
  síntesis de 224, 226*f*
prostaglandina E_2 (PGE_2), 197, 198*f*
prostaglandina H sintasa, 224
prostaglandina I_2 (PGI_2), 224
prostaglandinas (PG), 197-198, 198*f*, 216, 224, 662
  vía de la ciclooxigenasa en la síntesis de, 224-225, 225*f*, 226*f*
prostanoides, 197
  significado clínico de, 224, 226-227
  vía ciclooxigenasa en la síntesis de, 224-225, 225*f*, 226*f*
protamina, 677
proteasa de matriz, 576
proteasa HIV, catálisis ácido-base de 60, 60*f*
proteasas aspárticas, catálisis ácido-base de, 60, 60*f*
proteasas lisosomales, en la degradación de proteínas, 584-585
proteasas, 9
  como enzimas digestivas, 521
  degradación proteica por, 270-271, 270*f*, 271*f*
  derivados de fagocitos, 661-662
  en la degradación de proteínas, 584-585
  matriz, 576
  regulación enzimática utilizando, 87-88, 88*f*
  sinaptobrevina y, 587
  α2-macroglobulina y, 638, 638*f*
proteasomas
  degradación de proteínas en, 582, 584-585, 585*f*
  degradación de proteínas por, 84-85, 270-271, 270*f*, 271*f*
  estructura de, 270-271, 271*f*

proteína activadora de la proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (CREB), 505
proteína activadora por catabolito (CAP), 412
proteína asociada al receptor de LDL-1 (LRP-1), 238, 239*f*, 241
proteína C, 677
proteína C activada (APC), 677
proteína C-reactiva (CRP), 630, 630*c*
proteína cro, 415-416, 416*f*
proteína de desacoplamiento 1 (UCP1), 247, 247*f*
proteína de intercambio aniónico, 652
proteína de membrana de transporte de ácidos grasos, 238
proteína de replicación A (RPA), 364
proteína de retinoblastoma (proteína Rb), oncoproteínas y, 369
proteína de terminación, 378
proteína de transferencia de éster de colesterilo, 238, 254, 255*f*, 257
proteína de transferencia de triacilglicerol microsomal (MTP), 242
proteína de transporte de ácidos grasos, membrana, 238
proteína de transporte iónico metal divalente (DMT-1), 101
proteína de unión a ácidos grasos, 208, 238
proteína de unión a CREB (CBP), 513-514, 514*c*
proteína de unión a guanina. *Véase* proteína G
proteína de unión a inmunoglobulina (BiP), 581, 582*f*
proteína de unión a manano (MBP), 643
proteína de unión a manosa, 554
proteína de unión a poli(A) (PAB), 401, 401*f*, 402*f*
proteína de unión a TATA (TBP), 380
  unión a secuencia TATA de, 383-384
proteína de unión al elemento regulador de esterol (SREBP), 252
proteína disulfuro isomerasa (PDI), 584
proteína disulfuro isomerasa, 41-42
proteína estabilizadora de α-hemoglobina (AHSP), 42
proteína fosfatasa-1, 168, 169*f*, 170, 171*f*
proteína fosfatasas, defosforilación por, 87-90, 88*f*, 89*c*
receptores acoplados a proteína G (GPCR), 503, 503*f*, 657-658
proteína lambda represora (c1), 415-416, 416*f*
proteína MDR-1 (proteína-1 resistente a múltiples fármacos), 472
proteína p53, 372
proteína quinasa A (PKA), 504-505, 505*f*
proteína quinasa C (PKC), 507, 507*f*
  en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
proteína quinasa dependiente de DNA (DNA-PK), 370, 371*f*
proteína quinasa dependiente del AMP cíclico, en lipólisis, 246, 246*f*
proteína quinasas
  cAMP y, 504-505, 505*f*
  como segundos mensajeros, 482, 483*c*
  en el inicio de la síntesis de proteínas, 399
  en la regulación hormonal de la lipólisis, 246, 246*f*
  fosforilación por, 87-90, 88*f*, 89*c*
  señalización hormonal y, 508-511, 509*f*, 510*f*
proteína Rb. *Véase* proteína de retinoblastoma.
proteína regulada por hierro 1 (IREG1), 632
proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR), 485, 485*f*
proteína reguladora del AMP cíclico (proteína activadora del gen catabolito), 412
proteína reguladora transmembrana de la fibrosis quística, 478
  degradación de, 585
proteína relacionada a haptoglobina, 632
proteína represora c1, 415-416, 416*f*
proteína represora, lambda (c1), 415-416, 416*f*
proteína S, 677
proteína similar a Niemann-Pick C1, 257
proteína StAR (reguladora aguda esteroidogénica), 485, 485*f*
proteína transportadora acilo (ACP), 217*f*, 218*f*
  ácido pantoténico en, 539, 539*f*
proteínas
  agregados de, 41
  asimetría de, en el ensamblaje de la membrana, 589, 589*f*
  canales iónicos como transmembrana, 470-471, 470*f*, 471*f*, 471*c*
  ciclo de vida de, 23, 24*f*
  clasificación de, 34
  como combustible metabólico, 130, 136
  configuración de, 33-34
  conformaciones de, 33-35, 34*f*, 41-42
  constitutivas, 84
  daño de radicales libres, 541-542, 542*f*
  de doble función, 487
  de neutrófilos, 659, 659*c*
  degradación de
    ATP-dependiente de ubiquitina, 270-271, 270*f*, 271*f*
    ATP-independiente, 270
    función de proteasa y peptidasa en, 270-271, 270*f*, 271*f*
    importancia biomédica de, 269
    niveles de aminoácidos y, 271-272, 271*f*, 272*f*
    productos finales de, 272, 275, 275*f*
    regulación de, 84-85
    tasa de, 269-270
    trastornos de, 276-278, 277*c*
  desnaturalización de, 41
  dietas deficientes en, 263-264
  digestión y absorción de, 521, 523
  dominios de, 37, 38*f*, 39*f*
  en el flujo de la información genética, 393-394
  en fluido extracelular e intracelular, 460, 460*c*
  en membranas. *Véase también* proteínas de membrana
  estructura de
    características brutas, 34
    conformación *versus* configuración, 33-34
    cuaternaria. *Véase* estructura cuaternaria
    importancia biomédica de, 33
    naturaleza modular de, 34
    órdenes de, 34
    perturbaciones patológicas de, 42
    plegamiento dentro, 41-42, 42*f*
    primaria. *Véase* estructura primaria
    procesamiento postraduccional de, 42-44, 43*f*
    secundaria. *Véase* estructura secundaria
    técnicas biofísicas para resolver, 39-41
    terciaria. *Véase* estructura terciaria
  fase aguda, 526, 630, 630*c*
  función de, bioinformática y, 31
  fusión, 65-66, 66*f*
  glucoproteínas. *Véase* glucoproteínas
  homólogas, 61
  identificación de
    función de espectrometría de masas en, 28-30, 28*c*, 29*f*, 30*f*
    papel genómico en, 28
    proteómica y, 30-31
  importación de
    por mitocondrias, 576, 577c
    por núcleo celular, 576-579, 578*f*
    por peroxisomas, 579, 579*f*
  importancia biomédica de, 23
  interacciones no covalentes en, 8
  intercambio de fosfolípidos, 464
  lisosomal, 590
  L-α-aminoácidos en, 15, 15*c*-16*c*, 17
  Maduración
    del plegamiento, 41-42, 42*f*
    procesamiento postraduccional, 42-44, 43*f*
  mal plegadas, 584-586, 585*f*, 585*c*
  modificaciones de, 384
  perfilado de, 446-447
  plasma. *Véase* proteínas plasmáticas
  plegamiento de, 41-42, 42*f*
    función de calnexina en, 551-552
  prenilación de, 251
  procesamiento postraduccional de, 406
  purificación de
    electroforesis en gel, 26, 26*f*, 27*f*
    isoelectroenfoque, 26, 27*f*
    técnicas cromatográficas, 23-26, 26*f*, 27*f*
  reacciones de ROS con, 711*f*
  receptores de hormonas como, 482
  rendimientos de energía de, 138*c*
  requerimientos nutricionales para, 525-526
  secuenciación de. *Véase* secuenciación de proteínas
  secuencias o moléculas que dirigen, 573, 574*c*
  semividas de, 270
  tráfico intracelular de, 573
  transporte de plasma de, 498-499, 498*c*
  vías metabólicas de, 130*f*, 131, 131*f*, 132*f*
    a nivel tisular y orgánico, 132-133, 132*f*, 133*f*
    durante alimentación, 137*f*, 138, 138*c*
    en ayuno, 138, 138*c*
  volatilización de, 29-30, 30*f*
proteínas adaptadoras, 475
proteínas Argonauta, 391
proteínas asociadas a microtúbulos, 624
proteínas codificadoras de mamífero, 514*c*
proteínas constitutivas, 84
proteínas de anclaje quinasa A (AKAP), 505
proteínas de choque térmico (hsp), como chaperonas, 41, 576
proteínas de doble función, 487
proteínas de fase aguda, 526, 630, 630*c*
proteínas de fijación soluble de NSF (SNAP), 586*c*, 587*f*, 588
proteínas de fusión, 65-66, 66*f*
proteínas de fusión recombinantes, 65-66, 66*f*
proteínas de hierro no hemo. *Véase* proteínas de hierro-azufre

proteínas de la cubierta, 583, 586-587, 586*c*, 587*f*
proteínas de matriz, 576, 579
proteínas de membrana
  bicapa lipídica y, 463
  diferencias en, 463, 463*c*
  estructura de, dinámica,463-464
  integral, 34, 464-465, 464*f*
  mutaciones de, enfermedades causadas por, 478, 478*c*
  periféricas, 464-465, 464*f*
  rotación de, 589
proteínas de transporte de plasma, 498-499, 498*c*
proteínas de unión a calcio, papel de vitamina K en, 532-533, 533*f*
proteínas de unión a GTP, 251
proteínas de unión monocatenaria (SSB), 362*f*, 363-364, 363*c*
proteínas diméricas, 38
proteínas efectoras Rab, 586*c*, 587
proteínas estructurales, 592. *Véase también* colágeno; elastina; fibrilina
proteínas Fe-S (hierro-azufre), en complejos de la cadena respiratoria, 118- 120, 119*f*
proteínas fibrosas, 34
  colágeno como, 43
proteínas G (proteína de unión a guanina), 503, 658
  clases y funciones de, 504*c*
  familia de, 504
proteínas globulares, 34
proteínas hierro-azufre (Fe-S), en complejos de la cadena respiratoria, 118-120, 119*f*
proteínas integrales de membrana, 34
proteínas integrales, 464-465, 464*f*
proteínas lisosomales, 590
proteínas mal plegadas, degradación del retículo endoplásmico de, 584-586, 585*f*, 585*c*
proteínas mediadoras (Med), 384, 385*f*
proteínas monoméricas, 38
proteínas morfogenéticas óseas (BMP), 635
proteínas no histónicas, 351
proteínas periféricas, 464-465, 464*f*
proteínas plasmáticas, 133
  deposición de, 639, 639*c*
  distribución de fluidos y, 628
  electroforesis para análisis de, 628
  en inflamación, 630-631, 630*c*
  funciones de, 630*c*
  glucoproteínas como, 546
  haptoglobina, 631-632, 631*f*
  inmunoglobulinas, 639-643, 640*c*, 641*f*, 642*f*, 643*f*
  polimorfismo de, 629
  síntesis de, 133, 628-629
  vida media de, 630
proteínas que aceleran GTPasa (GAP), 578
proteínas que contienen kDEL, 574*c*, 583
proteínas Rab, 586-588, 586*c*
proteínas Ran, 578
proteínas reguladoras del factor de transcripción, dominios de unión al DNA de, 425*c*
  diseño de cremallera de leucina, 427, 427*f*
  diseño de dedo de zinc, 426, 426*f*
  diseño hélice-espiral-hélice, 425-426, 426*f*
proteínas secretoras, 581
proteínas SNAP (factor de fijación NSF soluble), 586*c*, 587*f*, 588
proteínas SNARE, 586- 588, 586*c*, 587*f*
proteínas solubles, 34, 581
proteínas tirosina quinasas citoplásmicas, 508-509, 510*f*
proteínas transactivadoras, 420, 421*f*
proteínas transmembrana
  canales de iones como, 469-471, 470*f*, 471*f*, 471*c*
  secuencia de aminoácidos de, 463
proteínas transportadoras, 468-469, 469*f*
proteínas traslocadora fosfolípidica, 464
proteínas t-SNARE, 586-588, 587*f*
proteínas v-SNARE, 586-588, 587*f*
proteínas/moléculas de carga, 578, 578*f*, 586-587
proteinasas, de células cancerosas, 698
proteinuria, 566
proteoglicanos, 147
  acumulación de, 235
  componentes de, 599, 599*f*, 600*f*
  en cartílago, 607-608, 608*f*, 608*c*
  enfermedad y envejecimiento con, 604
  enlaces *O*-glucosídicos en, 549
  funciones de los, 600-601, 603*c*
  producción de galactosa para, 187-188, 189*f*
  producción de glucuronato para, 186-187, 187*f*
proteólisis, 588
  regulación de enzimas por, 86-88, 88*f*
proteólisis parcial. *Véase* proteólisis selectiva
proteólisis selectiva, regulación enzimática por, 86 -88, 88*f*
proteoma, 30-31
proteómicos, 3, 447
  bioinformática y, 31
  desafíos en, 31
  objetivo de, 30-31
protohemo 114
protón fuerza motriz, 576
protones
  en agua, 9-10
  unión a hemoglobina, 52-53, 53*f*
protooncogenes, 685, 686*f*
protoporfirina III, en la síntesis de hemo, 307, 308*f*, 309*f*
protoporfirinógeno III, en la síntesis de hemo, 307, 308*f*, 309*f*
protoporfirinógeno oxidasa, 307, 308*f*, 309*f*, 310*c*
protrombina, 672, 673*f*, 673*c*, 674*c*
  activación factor Xa, 674-675, 675*f*
  medicamentos cumarínicos y 677-678
proximidad, catálisis enzimática por, 59
proyección de Haworth, 142, 142*f*
Proyecto del genoma humano (HGP), 3-4, 3*f*
PRPP glutamil amidotransferasa, en la síntesis de purina, 330-331, 331*f*
PRPP sintetasa
  defecto en, gota causada por, 334, 336*c*
  en la síntesis de pirimidina, 334, 334*f*
  en la síntesis de purina, 330, 331*f*, 334, 334*f*
PRPP. *Véase* fosforribosil pirofosfato
prueba de Ames, 684, 684*f*
prueba de inhibición bacteriana de Guthrie, 566
prueba de interacción de dos híbridos, 447, 449*f*
prueba de supresión de dexametasona, 567
pruebas de diagnóstico molecular, 4
pruebas de diagnóstico. *Véase* pruebas de laboratorio
pruebas de función de órgano, 566-567
pruebas de función del riñón, 566
pruebas de función hepática, 566
pruebas de función suprarrenal, 567
pruebas de función tiroidea, 567
pruebas de laboratorio
  causas de resultados anormales de, 560
  de la función del órgano, 566-567
  enzimas utilizadas en, 63-65, 64*c*, 65*f*, 564-565, 564*f*
  importancia biomédica de las, 560
  muestras para, 563
  para cáncer, 700-701, 701*c*
  para la hemostasia, 679
  rango de referencia de, 561
  técnicas utilizadas en, 563- 566, 564*f*
  validez de, 561-563, 561*f*, 562*f*, 563*c*
  valor clínico de, 562-563, 563*c*
pruebas de laboratorio utilizando, examen de unión a ligando, 565
PSA (antígeno específico de próstata), 700
pseudogenes, 360
pseudouridina, 336, 337*f*
psicosis de Korsakoff, 534
PstI, 433*c*
pterinas, 95, 96*f*
PTH. *Véase* hormona paratiroidea
PTS (secuencias de direccionamiento de matriz peroxisomal), 574*c*, 579, 579*f*
PTT. *Véase* tiempo parcial de tromboplastina activada
puentes de hidrógeno
  definición de, 7
  en colágeno, 43
  en DNA, 339-340, 340*f*
  en estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas, 39
  en hélices α, 35, 35*f*
  en láminas β, 36, 36*f*
  formación de moléculas de agua, 7, 7*f*
  interacciones hidrofóbicas y, 8
puentes de metileno, en porfirinógenos, 306-307
puentes salinos, 8
  en estructuras terciarias y cuaternarias de proteínas, 39
  en hemoglobinas, 52-53
puentes metineno, en hem, 48, 48*f*
punto de ramificación, de glucógeno, 166
puntos de control quinasas 1 y 2 (CHK1 y CHK2), 371, 371*f*
puntos de control, 372
puntos de control, en la división celular, 90, 90*f*
puntuación del código genético, 395
purificación
  de glucoproteínas, 547
  de proteínas y péptidos
    electroforesis en gel, 26, 26*f*, 27*f*
    enfoque isoeléctrico, 26, 27*f*
    técnicas cromatográficas de, 23-26, 26*f*, 27*f*
purinas
  absorción de luz ultravioleta por, 321
  análogos sintéticos de, 324*f*
  conversión de serina a, 300
  derivados de, 320-321, 322*c*
  en DNA, 338-339, 339*f*
  en RNA, 342, 343*f*
  gota y, 334
  importancia biomédica de, 320
  metabolismo de
    importancia biomédica de, 327-328
    trastornos de, 334-335, 336*c*

mutación de sustitución de, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*
no esenciales en la dieta, 328
química de, 320, 320*f*
síntesis de 328, 328*f*, 329*f*, 330, 330*f*
regulación de, 332, 332*f*, 334, 334*f*
síntesis de pirimidina coordinada con, 334, 334*f*
puromicina, 407, 407*f*
púrpura trombocitopénica inmunológica, 654-655

Q
Q. *Véase* coenzima Q
Q_{10}. *Véase* coeficiente de temperatura
Q-citocromo c oxidorreductasa (complejo III), 118, 119*f*, 120, 120*f*, 121*f*
quenodesoxicolil-CoA, 255, 256f
queratinas, 625, 625*c*
queratoderma palmoplantar epidermolítico, 625
quilo, 238
quilomicrones, 133, 133*f*, 137-138, 237, 237*c*
apolipoproteínas de, 238
en el transporte de lípidos, 236
en transporte de triacilglicerol, 238-239, 239*f*, 240*f*
metabolismo de, 239*f*, 240-241
química combinatoria, 63
quimiocinas, 658, 658*f*, 662
quimiotaxis, 657-658
quimioterapia
análogos de nucleótidos sintéticos en, 324-325, 324*f*, 325*f*
inhibidores del metabolismo del folato, 537
nuevas terapias, 701-703, 702*c*, 703*f*
resistencia a, 702-703, 702*c*
quimotripsina, 521
activación, 87-88, 88*f*
catálisis covalente de, 60-61, 61*f*
quinasa dependiente de fosfoinositol-1 (PDK1), 508, 509*f*
quinasa de proteína AMP-activada, 90
quinasa de proteína AMP-activada (AMPK), 253, 253*f*
quinasa relacionada con ATM (ATR), 371, 371*f*
quinasas dependientes de ciclinas (CDK)
en cáncer, 691
en ciclo celular, 368, 369*f*, 369*c*
inhibición de, 372
quinesina, 624
quinurenina formilasa, 288, 289*f*
quinureninasa, 288, 289*f*
quitina, 147, 148*f*

R
radiación
daño del DNA causado por, 370*f*, 370*c*
efecto carcinógeno de la, 683, 683*c*
radiación ionizante, daño en el DNA causado por, 370*f*, 370*c*
radical libre de anión superóxido, 116
radicales de oxígeno. *Véase* especies reactivas de oxígeno
radicales libres
daño causado por, 541-542, 542*f*
fuentes de, 542-543, 543*f*
importancia biomédica de, 541
mecanismos de protección contra, 543-544, 544*f*
paradoja antioxidante de, 544-545, 544*c*
producción de peroxidación lipídica, 203-204, 204*f*
reacciones en cadena autoperpetuas de, 541
teoría del envejecimiento, 710, 712
radicales libres, teoría del envejecimiento, 710, 712
radioinmunoensayos, pruebas de laboratorio usando, 565
radios Stokes, 24-25
rama citosólica, clasificación de proteínas, 574*f*
en el núcleo celular, 575*f*, 576-579, 577*c*, 578*f*
en las mitocondrias, 576, 577*f*, 577*c*
en peroxisomas, 579, 579*f*
señales en, 574-575
rama ER rugosa, de clasificación de proteínas, 574, 574*f*, 575*f*
péptidos de señal N-terminal en, 580, 580*c*
translocación postraduccional, 581-582, 582*f*
vía cotraduccional, 580-581, 581*f*
rancidez, causante de peroxidación, 203
rango de referencia, de pruebas de laboratorio, 561
raquitismo, 531-532
rayos X de, efecto carcinogénico de, 683, 683c
rayos-γ, efecto carcinogénico de, 683, 683*c*
reacción acrosomal, 553
reacción de activación, 501
reacción de Edman, proteína y secuenciación peptídica con, 27-28, 27*f*
reacción de Fenton, 633, 633*f*
reacción de Maillard, 553, 553*f*
reacción en cadena de la polimerasa (PCR), 439-440, 441*f*
aplicaciones médicas de, 65
en la detección de la secuencia de repetición de microsatélites, 358
reacciones alérgicas, a los alimentos, 519, 523
reacciones Bi-Bi, 79, 79*f*, 80*f*
reacciones de "salvamento"
en la síntesis de pirimidina, 332-333
en la síntesis de purinas, 330, 331*f*
reacciones de conjugación, de xenobióticos, 558
reacciones de desplazamiento único, 79, 79*f*
reacciones de doble desplazamiento, 79, 79*f*
reacciones de no equilibrio
en la regulación de la glucólisis, 160-161
regulación de las vías metabólicas con, 135
reacciones de orden aleatorio, 79, 79*f*
reacciones de orden obligatoria, 79, 79*f*
reacciones de ping-pong, 79, 79*f*, 80*f*
en catálisis covalente, 59, 59*f*
transaminación, 59, 59*f*, 273, 273*f*
reacciones de transferencia grupal, 9, 59, 59*f*
reacciones endergónicas, acoplamiento de la reacción exergónica a, 106-107, 106*f*, 107*f*, 109
reacciones exergónicas, acoplamiento de reacción endergónica a, 106-107, 106*f*, 107*f*, 109
reacciones generadoras de flujo, de las vías metabólicas, 135
reacciones limitantes de la velocidad, 84
reacciones químicas
reacciones químicas espontáneas, 69
reacciones redox
cambios de energía libre de, 111-112, 112*c*
importancia biomédica de, 111
participación de hierro en, 97
reacciones secuenciales de, 79, 79*f*
reactivo Edman, 27, 27*f*
reactivo Sanger, 27
reactivos, *Véase* sustratos
recambio proteico, 84, 269-270
en membranas, 589
receptor activado por proteasa-1 (PAR-1), en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
receptor activado por proteasa-4 (PAR-4), en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
receptor análogo, 502
receptor apo B-100
en el metabolismo de LDL, 241
regulación de, 253
receptor apo E
en metabolismo LDL, 241
en captación de quilomicrones remanentes, 240*f*, 241
regulación de, 253
receptor B_1 carroñero, 241*f*, 242
receptor B_1 secuestrador de clase B (SR-B1), 241*f*, 242
receptor de dihidropiridina, 618, 618*f*
receptor de partículas de reconocimiento de señal (SRP), 580-581, 581*f*
receptor de transferrina, 633, 634-635, 635*f*
receptor del factor de crecimiento fibroblástico 3 (FGFR3), 609
receptor farnesoide X (FXR), 256, 513*c*
receptor galactosilo, 475
receptor HDL, 238, 241*f*, 242
receptor LDL, 238
en captación remanente de quilomicrones, 240*f*, 241
en la inserción cotraduccional, 582-583, 582*f*
regulación de, 253
receptor SRP (SRP-R), 580-581, 581*f*
receptor VLDL, 238, 240
receptores adrenérgicos, activación de glucogenólisis por, 168, 169*f*
receptores de asialoglucoproteína, 547, 582-583, 582*f*
receptores de la hormona peptídica, 482
receptores de protones, bases como, 10
receptores hormonales
clasificación de, 482, 483*c*
como proteínas, 482
especificidad y selectividad de, 481, 481*f*
reconocimiento y acoplamiento dominios de, 481-482
receptores nucleares, 482
recién nacidos, hemoglobinas de, 51, 51*f*
recombinación homóloga (HR), 369, 370*f*, 370*c*
recombinación, cromosómicas, 359, 359*f*, 360*f*
recombinante t-PA, 679
recombinasa Flp de levadura, 435
recombinasas, 434*c*, 435
reconocimiento de células, glucoesfingolípidos en, 234
recuento de plaquetas, 679
red de carga y relevo, 61, 61*f*
red del trans Golgi (TGN), 574, 575*f*, 588
reducción
de oxígeno por complejo IV, 120-121
definición de, 111
potencial redox y, 111-112, 112*c*

reacciones de deshidrogenasa, 112-114, 113*f*
reacciones de hidroperoxidasa, 114
reemplazo molecular, 40
región anticodón de tRNA, 394-396, 396*f*
regiones de codificación, 355-356, 357*f*
regiones de control de *locus* (LCR), 424-425
regulación alostérica
de las enzimas, 85-86, 85*f*, 135-136, 135*f*
en la glucólisis y regulación de gluconeogénesis, 175
cAMP dependiente de proteína quinasa
estructura de, 38*f*
regulación de glucógeno por, 167-168, 169*f*, 170, 171*f*
regulación de la expresión génica
amplificación, 429, 429*f*
dirigido a, 446-447
dominios de unión a DNA de las proteínas reguladoras del factor de transcripción, 425*c*
diseño de cremallera de leucina, 427, 427*f*
diseño de dedo de zinc, 426, 426*f*
diseño hélice-espiral-hélice, 425-426, 426*f*
estabilidad de mRNA y, 430, 430*f*
eucariótica
bacteriófago lambda como paradigma de proteína-DNA interacciones, 414-418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
características especiales de, 418
diversidad de respuesta en, 424, 425*f*
elementos potenciadores de DNA y, 420-423, 422*f*, 422*c*, 423*f*
expresión específica del tejido de, 423
genes informadores, 423, 424*f*
mecanismos epigenéticos, 419-420, 420*f*, 421*f*
modelo base de cromatina en, 418 -419
procariotas en comparación con, 428-430, 428*c*, 429*f*, 430*f*
regiones de control de *locus* y aislantes en, 424-425
importancia biomédica de, 409-410
modelo del operón de, 411-412, 411*f*, 413*f*, 414
modelos de, 411
alteración de la función de mRNA en ncRNA, 428-429
positivos y negativos, 410, 410*c*
procariótica
eucariotas en comparación con, 428-430, 428*c*, 429*f*, 430*f*
tipo encendido-apagado de, 424
unicidad de, 411
procesamiento de RNA alternativo y, 430
respuestas temporales a, 410-411, 410*f*
RNA procesamiento alternativo para, 430
separación de dominio en, 427-428, 428*f*
regulación génica dirigida, 446-447
regulación metabólica
activa o pasiva, 83, 83*f*
alostérica, 85-86, 85*f*, 135-136, 135*f*
de la cantidad de enzimas, 84-85
enzimas limitantes de la velocidad como objetivos de, 84
hormonas en la, 86, 135-136, 135*f*
importancia biomédica de la, 82-83
modificaciones covalentes en la, 85-90, 88*f*, 89*c*
múltiples mecanismos de, 85
papel de la compartimentación en, 83-84
proenzimas en, 87-88, 88*f*
reacciones de no equilibrio como puntos de control en, 135
reacciones generadoras de flujo en, 135
redes de control de, 90, 90*f*
segundos mensajeros en la, 86
regulación por retroalimentación, 86, 89, 136
de trombina, 677
regulación. *Véase* regulación metabólica
reguladores negativos, de expresión génica, 410, 410*c*, 412, 414, 416
reguladores positivos, de expresión génica, 410, 410*c*, 414, 416
relación glucagón/insulina, en regulación de cetogénesis, 214
relación insulina/glucagón, en la regulación de la cetogénesis, 214
relaciones axiales, 34
renaturalización, DNA, emparejamiento de pares de bases y, 341
renina, 56
renovación del epitelio intestinal, 708c
reparación de desapareamiento (MMR), 369, 370*f*, 370*c*
reparación de escisión de nucleótidos (NER), 369, 370*f*, 370*c*
reparación por escisión de base (BER), 369, 370*c*, 370*f*
repeticiones de trinucleótidos, 358
replicación. *Véase* DNA, replicación y síntesis de
representación de Lineweaver-Burk, 74-75, 75*f*
evaluación del inhibidor con, 77, 77*f*, 78*f*
para las reacciones de Bi-Bi, 79, 80*f*
represión, de la síntesis enzimática, 84
represor lac, 411-412, 413*f*
represores en la expresión génica, 410-412
reproducción, prostaglandinas en, 216
RER. *Véase* retículo endoplásmico rugoso
RE *Véase* enzimas de restricción
residuos de aminoacil, 21
residuos de desoxicitidina, metilación de, 418-419
residuos de glicina, 593
residuos de yodotironilo, 492
resistencia a la insulina, función de glucoproteína, 553
resistencia a múltiples fármacos (MDR), 478
respiración, 111
respuesta autoinmune, 645
respuesta de proteína desplegada de (UPR), 584
respuesta de tipo A, en expresión génica, 410-411, 410*f*
respuesta de tipo B, en expresión génica, 410*f*, 411
respuesta de tipo C, en expresión génica, 410*f*, 411
respuesta inflamatoria aguda, 656
respuesta inflamatoria, 511, 656
respuesta inmune
escape de cáncer de, 695, 695*f*
glucoproteínas en, 553-554
restos de quilomicrones, 237*c*, 238
absorción hepática de, 239*f*, 241
formación, 240-241
resultado falso positivo, 562
resultado verdadero positivo, 562
retículo endoplásmico (ER), 134
alargamiento de la cadena de ácido graso en, 220, 221*f*
brefeldina A y, 588
calnexina en, 551-552
citocromos P450 en, 557
control de calidad, 584
degradación de proteínas mal plegadas en, 584-585, 585*f*, 585*c*
exocitosis en, 475
hipótesis de señal de unión de polirribosoma a, 574, 574*f*, 580-582, 580*c*, 581*f*, 582*f*
rugoso. *Véase* retículo endoplásmico rugoso
señales de clasificación de proteína en, 573, 574*c*
unión de la proteína a, 583
retículo endoplásmico rugoso (RER)
en la clasificación de proteínas, 574, 574*f*, 585*f*
que se une a, 575*f*, 580-582, 580*c*, 581*f*, 582*f*
síntesis de proteínas y, 405
vías de inserción de proteínas en, 582-584, 582*f*, 583*f*
retículo sarcoplásmico,618, 618*f*
reticulocitos, 649
retina, atrofia por rotación de, 282
retinaldehído, 529, 529*f*
retinitis pigmentosa, ácido graso esencial deficiencia y, 224
retinol. *Véase* vitamina A
retroposones, 357
retrotranslocación, 584, 585*f*
retrovirus, transcriptasas inversas en, 344, 367-368
RF1 (factor de liberación 1), 403, 404*f*
RF3 (factor de liberación 3), 403-404, 404*f*
RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción), 65, 445
rho quinasa, 617
rianodina, 618
riboflavina ligada a las deshidrogenasas, 114
riboflavina. *Véase* vitamina B_2
ribomiopatías, 649
ribonucleasas, 348
ribonucleosidos difosfatos, 332, 332*f*
ribonucleósidos, 320, 321*f*
ribonucleótido reductasa
galio en, 94
hierro en, 97
ribosa 5-fosfato, en la síntesis de purina, 328, 329*f*, 330, 331*f*
ribosa, 141, 144*f*, 144*c*
en nucleósidos, 320, 321*f*
formación de la vía pentosa fosfato, 182-185, 183*f*, 184*f*
vías metabólicas de, 130
ribosa-5-fosfato cetoisomerasa, en la vía de la pentosa fosfato, 183*f*, 184*f*, 185
ribosilación del ADP
de histonas, 351, 353*c*
NAD^+ como fuente para, 534
regulación enzimatica por, 86-87
ribosomas, 134, 347, 347*c*
bacterianos, 406-407
como ribozima, 66
en la síntesis de proteínas, 399
estructura de, 574
perfiles de, 447
ribozimas, 66-67, 343, 391

ribulosa, 144*f*, 144*c*
ribulosa-5-fosfato 3-epimerasa, en la vía de la pentosa fosfato, 183*f*, 184*f*, 185
ribulosa-5-fosfato, en la vía de la pentosa fosfato, 183-185, 183*f*, 184, 184*f*
ricina, 407
rigor mortis, 616
riñón
  membrana basal de, 603
  metabolismo de la vitamina D en, 530-531, 531*f*
  síntesis de calcitriol en, 490-491, 490*f*
  umbral de glucosa en sangre de, 180
RISC (complejo de silenciamiento inducido por RNA), 391
RNA
  catálisis por, 66-67
  circular, 348
  clases/especies de, 344-348, 374, 375*c*
  como catalizadores, 391
  como polinucleótidos, 325
  complementariedad de, 342-343, 344*f*, 346
  en cromatina, 351
  en flujo de información genética, 393-394
  en la síntesis de proteínas, 343-344
  en virus, 344
  estructura de, 342-343, 343*f*, 344*f*, 345*f*, 346*f*
  importancia biomédica de, 338, 374
  mensajero. *Véase* el RNA mensajero
  micro. *Véase* microRNA
  modificación de
    alteración de la secuencia de mRNA, 391
    mRNA, en los extremos 5′y 3′, 389-390
    pri-miRNA, 389-390, 390*f*
    procesamiento de tRNA y, 391
    mutaciones causadas por cambios en, 396-398, 396*f*, 397*f*, 398*f*, 411
  no codificador. *Véase* RNA no codificantes
  no codificante largo, 348, 374, 375*c*
  nucleares pequeños. *Véase* RNA nuclear pequeño, 347-348
  pequeños, heterogéneos regulatorios, 348
  perfiles de, 446-447
  procesamiento de
    alternativa, expresión génica y, 430
    de rRNA y tRNA, 389
    después de la transcripción, 386
    en regulación de expresión génica, 428, 428*c*
    secuencias para eliminar, 386, 387*f*, 388*f*
    unión alternativa, 388, 388*f*
    uso de promotor alternativo en, 388-389, 389*f*
  ribosomal. *Véase* RNA ribosomal
  silenciamiento de. *Véase* silenciamiento RNA
  síntesis de, 339. *Véase también* transcripción
    cadena de molde de DNA para, 375, 375*f*
    proceso cíclico de, 378-379
    RNA polimerasa en, 375-377, 376*f*, 377*f*
    síntesis de DNA en comparación con, 375
  transferencia. *Véase* transferencia de RNA
  unión de, 386-388, 387*f*
    alternativo, 388, 388*f*
RNA circulares (circRNA), 348
RNA de codificación de proteína. *Véase* RNA mensajero
RNA de transferencia (tRNA), 343, 374, 375*c*
  asociación de aminoácidos con, 395-396, 395*f*, 396*f*
  en la síntesis de proteína
    elongación de la, 402-403, 402*f*
    iniciación, 399, 400*f*, 401-402
    terminación, 403-404, 346*f*
  estructura de, 346-347
  función de, 345-346
  procesamiento de
    modificación y, 391
    precursores para, 389
  región anticodón de, 394-396, 396*f*
  supresor, 398
RNA dependiente de DNA polimerasa, 360
RNA dependiente de DNA polimerasas de mamífero, 378, 378*c*
RNA largos no codificantes (lncRNA), 348, 374, 375*c*
RNA mensajero (mRNA), 343, 374, 375*c*
  amplificación de, 429, 429*f*
  asignaciones de codones en, 393-395, 394*c*
  características químicas de, 344-345, 345*f*
  edición de, 391
  empalme alternativo y, 388, 388*f*
  en flujo de información genética, 393-394
  en la síntesis de proteínas
    elongación, 402-403, 402*f*
    iniciación, 399, 400*f*, 401-402, 401*f*
    terminación, 403-404
  estabilidad de, 430, 430*f*
  función de, 344, 344*f*
  modificación de, 389-390
  modulación de expresión de genes y, 428-429
  no traducible, 405, 405*f*
  policistrónico, 411
  precursores, 345-346, 356
  procesamiento de, 386-388, 387*f*
  punto de partida de la transcripción y, 376
  relación con el DNA cromosómico, 357*f*
  secuencia de nucleótidos de, 394, 394*c*
    mutaciones causadas por cambios en, 397-398, 398*f*
  translocación de, 578
RNA no codificante (ncRNA), 347-348. *Véase también* RNA no codificantes largos; microRNA; RNA ribosomal; RNA silencioso; pequeño RNA nuclear; RNA de transferencia
  en cáncer, 689-690
  modulación de la expresión génica por, 428-429
RNA nuclear pequeño (snRNA), 343-344, 344*c*, 347, 374, 375*c*
  en el procesamiento de RNA, 386-388
  en unión alternativa, 388
RNA pequeño, 347-348
RNA polimerasa II
  activación por fosforilación de, 384, 385*f*
  activadores y correguladores y, 384-385, 385*c*
  en transcripción, 380-381, 380*f*, 381*f*, 382*f*
  formación de, 383-384
  procesamiento de RNA y, 386, 387*f*
  señales de terminación para, 383
RNA polimerasas (RNAP)
  bacterianas, 377, 377*f*
  en modelo de operón, 412, 413*f*, 414
  iniciación por, 375-377, 376*f*, 377*f*
  mamíferos, 378, 378*c*
RNA polimerasas dependiente de DNA
  en el modelo de operón, 412, 413*f*, 414
  iniciación por, 375-377, 376*f*, 377*f*
RNA reguladores heterogéneos (sRNA), 348
RNA ribosomal (rRNA), 343, 374, 375*c*
  amplificación de, 429, 429*f*
  como peptidil transferasa, 402, 403*c*
  en síntesis proteica
    en elongación de la, 402-403, 402*f*
    iniciación, 399, 400*f*, 401
  estructura de, 347, 347*c*
  función de, 347
  precursores para, 389
RNAP. *Véase* RNA polimerasas
RNA-RNA hibridación, 348
RNAsa H, 434*c*
RNA-Sec, 447
rodopsina, 529, 530*f*
ROS. *Véase* especies reactivas de oxígeno
rotación, proteína, 84, 269-270
roturas de doble cadena (DSB), 370, 370*f*, 371*f*
RPA (proteína de replicación A), 364
RQ (cociente respiratorio), 524
RRM (diseño de reconocimiento de RNA), 387
rRNA. *Véase* RNA ribosómico
RSV (virus del sarcoma de Rous), 685

S
sacarosa, importancia fisiológica de, 145, 146*f*, 146*c*
S-acilación, 463
S-adenosilmetionina, 323, 323*f*, 324*c*
  biosíntesis de, 288, 290*f*, 291*f*, 298-299, 299*f*
sales biliares, 521
salud, 2-4, 2*f*, 3*f*
Sanger, Frederick, trabajo de secuenciación de, 26-27
Sangre
  bilirrubina en, 313-315, 313*c*, 315*c*
  integración del metabolismo en, 132-133, 132*f*, 133*f*
sangre, funciones de, 628, 628c. *Véase también* proteínas plasmáticas
sarcoglicano, 623*f*
sarcolema, 612
sarcómero, 612*f*
sarcoplasma, 612
sarcosina, 300-301
SD (silenciamiento de dominios), 428, 428*f*
SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio), purificación de proteínas y péptidos con, 26, 26*f*
Sec12p, 586
secreción constitutiva, 574
secreción regulada, 574
secuencia activadora aguas arriba (UAS), 427
secuencia iniciadora (Inr), 380
secuencia TATA, en el control de la transcripción
  en bacterias, 379-380, 380*f*
  en eucariotas, 379-381, 380*f*, 381*f*
  unido con TBP, 383-384
secuenciación
  de DNA, 439
  de proteínas y péptidos. *Véase* secuenciación de proteínas

secuenciación de proteínas
espectrometría de masas para, 28-30, 28*c*, 29*f*, 30*f*
genómica y, 28
proteómica y, 30-31
reacción Edman para, 27-2 8, 27*f*
técnicas de biología molecular para, 28
técnicas de purificación para, 23-26, 25*f*, 26*f*, 27*f*
trabajo de Sanger en, 26-27
secuenciación de próxima generación (NGS), 445-447, 701
secuenciación de una sola célula, en la investigación del cáncer, 701
secuencias consenso de Kozak, 401
secuencias consenso, 383-384, 388*f*
Kozak, 401
secuencias de dirección de la matriz peroxisomal (PTS), 574*c*, 579, 579*f*
secuencias de repetición de microsatélites, 358
secuencias de replicación autónoma (ARS), 362
secuencias de señal, 573-575, 574*c*, 582*f*, 629
secuencias intermedias. *Véase* intrones
secuencias topogénicas, 583
segunda ley de la termodinámica, 106
segundos mensajeros, 482, 483*c*, 502. *Véase también* generación de señal
cGMP como, 323
fosfatidilinosítido como, 200, 200*f*
fosfolípidos como, 229
regulación enzimática por, 86
selectinas, 575*f*, 553-554
selenio, 204, 244
en glutatión peroxidasa, 114, 185-186, 186*f*
requerimiento humano de, 93, 93*c*
selenocisteína, 15, 17, 17*f*
síntesis de, 267-268, 268*f*
selenofosfato sintetasa, 268, 268*f*
semialdehído succínico deshidrogenasa, defectos en, 303, 303f
semiquinona, 120, 121*f*
senescencia replicativa, 716
sensibilidad, daño al DNA y, 371, 371*f*
sensibilidad, pruebas de laboratorio, 562, 563*c*
sensores de daño de DNA, 370, 371*f*
señal de hipótesis de unión a polirribosoma, 574, 574*f*, 580-582, 580*c*, 581*f*, 582*f*
señal de interrupción de transferencia, 582, 583*f*
señal de localización nuclear (NLS), 574*c*, 577-578, 578*f*
señal de parada de transferencia, 582, 583*f*
señales de exportación nucleares (NES), 578
señales de terminación de traducción, 394, 394*c*
señales de terminación, de traducción, 394, 394*c*
señales epigenéticas, 419, 420*f*, 421*f*
señales intracelulares, 502. *Véase también* segundos mensajeros
señalización autocrina, 662
señalización celular
fosfatidilcolinas en, 200
fosfatidilinositol en, 200
señalización de la paracrina, 662
señalización transmembrana externa, en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
señalización transmembrana interior-exterior, en agregación plaquetaria, 670, 671*f*
señalización transmembrana, 459, 467*c*, 475-476
en cáncer, 689, 689*c*
en la agregación de plaquetas, 670, 671*f*
serina proteasas, catálisis covalente de, 60-61, 61*f*
serina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 283, 284*f*
productos especializados de, 300
síntesis de, 265, 266*f*
serotonina, conversión de triptófano a, 300, 301*f*
serpina, 638
SH2 (homología Src 2), 508, 509*f*
SHBG (globulina fijadora de hormonas sexuales), 499, 499*c*
sialidosis, 603
silenciadores de RNA (siRNA), 348, 374, 375*c*
modulación de la expresión génica por, 428-429
síntesis de, 390-391, 390*f*
silenciadores, de expresión génica, 410
elementos de DNA, 422-423
expresión específica de tejido de, 423
silenciamiento de dominios de (SD), 428, 428*f*
silenciamiento, de expresión génica, 87
simvastatina, 257
sinaptobrevina, 587
sincronización, de nucleosoma, 353
síndrome adrenogenital, 487
síndrome carcinoide, 535
síndrome cerebrohepatorrenal (Zellweger), 215, 579-580, 580*c*
síndrome Chèdiak-Higashi, 585*c*
síndrome coronario agudo, 654
síndrome de Alport, 595-596, 595*c*
síndrome de Barth, 201
síndrome de Crigler-Najjar, 314
síndrome de de hiperornitinemia-hiperamonemia, 282
síndrome de dificultad respiratoria infantil (IRDS), 234
síndrome de dificultad respiratoria, deficiencia de surfactante y, 200, 229, 234
síndrome de Dubin-Johnson, 315
síndrome de Ehlers-Danlos, 43-44, 264, 592, 595, 595*c*, 596*c*
síndrome de estrés porcino, 618
síndrome de Gilbert, 314
síndrome de Guillain-Barré, 473
síndrome de Hermansky-Pudlak, 585*c*
síndrome de hiperornitinemia, hiperamonemia y homocitrulinuria (HHH), 277
síndrome de Kartagener, 625
síndrome de Lesch-Nyhan, 327, 334-335, 336*c*
síndrome de Marfan, 597, 597*f*
síndrome de Maroteaux-Lamy, 604*c*
síndrome de Menkes, 43, 263, 596
síndrome de Morquio, 604*c*
síndrome de Natowicz, 604*c*
síndrome de progeria Hutchinson-Gilford, 625
síndrome de QT largo congénito, 478*c*
síndrome de Reye, 226
aciduria orótica en, 336
síndrome de Richner-Hanhart, 286, 287*f*
síndrome de Sanfilippo, 604*c*
síndrome de Sjögren-Larsson, 226
síndrome de Stickler, 608
síndrome de Williams-Beuren, 596
síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal), 215, 579-580, 580*c*
Síndrome HHH (hiperornitinemia, hiperamonemia y homocitrulinuria), 277
síndrome metabólico, 180
síndrome oculocerebrorrenal, 585*c*
síndrome oculocerebrorrenal de Lowe, 585*c*
síndrome Sly, 604*c*
síndrome urémico hemolítico, 655
síndrome-5q, 649
síndromes de Hunter, 603, 604*c*
síndromes Hurler, 603, 604*c*
SINE (elementos nucleares cortos intercalados), 357-358
síntesis de ácidos grasos
efectos de la fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
en citosol, 216-220, 217*f*, 218*f*
extramitocondrial, 216
función del ciclo del ácido cítrico en, 153-155, 155*f*
importancia biomédica de la, 216
síntesis de Fourier, 40
síntesis de grasa de la leche, 240
síntesis de proteína, 134
alargamiento en, 402-403, 403*f*, 403*c*
amenazas ambientales y, 405
con tecnología de DNA recombinante, 441-442
en aparato de Golgi, 574, 575*f*
flujo de información genética, 393-394
importancia biomédica de, 393
inhibición antibiótica de, 406-407, 407*f*
iniciación de, 399-402, 400*f*, 401*f*
mRNA y, 344, 344*f*, 394, 394*c*
mutaciones y, 396-398, 396*f*, 397*f*, 398*f*
polisomas en, 405, 574, 574*f*
por mitocondrias, 574*c*, 576
principios modulares en, 34
procesamiento postraduccional y, 406
regulación de, 84
replicación de virus y, 405-406, 406*f*
reticulocitos y, 649
RNA y, 343-344
tasa de, 269-270, 401-402, 402*f*
terminación de, 403-404, 404*f*
translocación y, 403
tRNA y, 395-396, 395*f*, 396*f*
síntesis de triacilglicerol, 134
efectos de fructosa en, 186, 188*f*, 189-190
síntesis hormonal
angiotensina II, 495-496, 496*f*
calcitriol, 489-491
catecolaminas, 491-492, 491*f*
de forma activa y, 484
desde colesterol, 202, 249, 483, 484*f*, 485-491, 485*f*
dihidrotestosterona, 483, 487, 489*f*
disposiciones celulares de, 483
esteroidogénesis ovárica, 487-489, 489*f*, 490*f*
esteroidogénesis suprarrenal, 485-487, 485*f*
esteroidogénesis testicular, 487, 488*f*
familia POMC, 496-497, 497*f*
glucocorticoides, 486-487, 486*f*
insulina, 493-494, 494*f*
metabolismo del yoduro y, 492
mineralocorticoides, 485-486, 486*f*
paratiroides, 494, 495*f*
precursores peptídicos para, 492-493

síntesis de andrógenos, 486*f*, 487
tetrayodotironina, 492, 493*f*
triyodotironina, 492, 493*f*
síntesis semidiscontinua de DNA, 362*f*, 364, 366*f*
siRNA. *Véase* silanciamiento RNA
sirtuinas, 89
sistema ABO, 653-654, 654*f*
sistema citocromo P450, 111
activación de carcinógeno por, 684
como monooxigenasas, 115-116, 115*f*, 116*f*
en el metabolismo de fármacos, 115- 116, 115*f*, 116*f*, 556-558
esterol 27-hidroxilasa, 255
hidroxilación de xenobióticos por, 556-558
hierro en, 97
inserción en la membrana, 583
naturaleza inducible de, 557-558
nomenclatura de, 557
polimorfismo de, 557
sistema oxidante etanol microsomal, 244
sistema de coagulación. *Véase también* hemostasia
acciones de células endoteliales en, 670, 672
agregación plaquetaria en, 670, 671*f*
deficiencias hereditarias de, 678
efectos de los medicamentos anticoagulantes, 677-678
formación de coágulos de fibrina en. *Véase* formación de coágulos de fibrina
importancia biomédica de, 669
inhibición de la trombina en, 677-678
pruebas de laboratorio que miden, 679
regulación de la trombina en, 677
tipos de trombos en, 670
sistema de complemento (cascada), 643-644, 644*f*
sistema de elongasa de ácidos grasos, 220, 221*f*, 223-224, 223*f*
sistema de Genevan, para la nomenclatura de ácidos grasos, 196
sistema de transporte de sustrato, mitocondriales, 125-126, 125*f*
sistema endocrino. *Véase también* receptores hormonales; hormonas
importancia biomédica, 480
regulación neural de, 480
sistema efector de proteína G del receptor hormonal, 503*f*
sistema extramitocondrial, síntesis de ácidos grasos en, 216
sistema hepcidina, 94
sistema inmune
adaptativo, 639, 643, 662
disfunciones de, 644-645
innato, 639, 643
sistema inmune adaptativo, 639, 643, 662
sistema inmune innato, 639, 643
sistema microsomal de elongación, 220, 221*f*
sistema nervioso central (CNS), requerimiento de glucosa, 136
sistema oxidante microsómico de etanol (MEOS), 244
sistema T-tubular, 619
sistemas antiporte, 468, 468*f*
sistemas antiporte, para nucleótidos del azúcar en la síntesis de glucoproteínas, 549-550
sistemas biológicos, 4, 447-449
sistemas de cotransporte, 468, 468*f*
sistemas de difusión de intercambio, 124
sistemas de uniporte, 468, 468*f*
sistemas isotérmicos, 105
sistemas no reprimidos, 410
sistemas simporte, 468, 468*f*
sistemas transportadores, para nucleótidos de azúcares en la síntesis de glucoproteínas, 549-550
sitio A (receptor), 402, 403*f*
sitio aceptor (A) del ribosoma 80S, 402, 403*f*
sitio activo, 58-59, 59*f*
energía de activación que disminuye por, 72
sitios alostéricos en comparación con, 86
sitio alostérico, 85-86
sitio catalítico. *Véase* sitio activo
sitio de inicio de transcripción (TSS), 376, 377*f*
alternativo, 430
sitio de salida (E), del ribosoma 80S, 402, 403*f*
sitio del aminoacil, aminoacil-unido a tRNA, 402, 403*f*
sitio E (salida), de ribosoma 80S, 402, 403*f*
sitio interno de entrada ribosomal (IRES), 405-406, 406*f*
sitio P (peptidilo), de ribosoma 80S, 402, 403*f*
sitio peptidil (P), de ribosoma 80S, 402, 403*f*
sitio promotor, en modelo del operón, 411*f*, 412
sitio PstI, inserción de DNA en, 437, 437*f*
sitios bacterianos lox P, 435
sitios cos, 436
sitios de contacto, 576
sitios de inicio alternativos de transcripción, 430
sitios de restricción, 64
sitios FRT de levadura, 435
sitios hipersensibles, cromatina, 354
SMAC, en apoptosis, 693*f*, 694
SNP (polimorfismos de un solo nucleótido), 442, 445
snRNA. *Véase* RNA nuclear pequeño
sobrenutrición, 524-525, 524*f*. *Véase también* obesidad
SOD. *Véase* superóxido dismutasas
sodio (Na^+)
coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
en líquido extracelular e intracelular, 460, 460*c*
solubilidad
de aminoácidos, 20, 20*f*
de lípidos, 196
soluciones acuosas. *Véase* agua
solvente, agua como ideal, 6-7, 7*f*
sonicación leve, 465
sorbitol deshidrogenasa, 186, 188*f*
sorbitol, en catarata diabética, 190-191
S-prenilación, 463
SR (motivos de serina-arginina), 387
SR-B1 (receptor de barrido B1), 241*f*, 242
Src homología 2 (SH2), 508, 509*f*
SREBP (proteína de unión al elemento regulador del esterol), 252
sRNA (reguladores pequeños y heterogéneos de RNA), 348
SRP (partícula de reconocimiento de señal), 580-581, 581*f*, 629
SSB (proteínas de unión monocatenaria), 362*f*, 363-364, 363*c*
ssDNA (DNA monocatenario), 361
ß-glucuronidasas, 313
STAT (transductores de señal y activadores de la transcripción), 509, 510*f*
succinato deshidrogenasa, 114
en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
inhibición de, 77, 77*f*
succinato Q reductasa (complejo II), 118, 119*f*, 120, 120*f*
succinato tioquinasa (succinil-CoA sintetasa), 152*f*, 153, 247, 247*f*
succinil-CoA
biosíntesis hem desde, 305-307, 306*f*, 307*f*, 308*f*, 309*f*, 310*c*
en ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
succinil-CoA acetoacetato transferasa (tioforasa), 211, 213*f*
en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
succinil-CoA sintetasa (succinato tioquinasa), 152*f*, 153, 247, 247*f*
sueño, prostaglandinas en, 216
sulfatación, de xenobióticos, 558
sulfatida, 202
sulfato de dermatán, 599, 601*f*, 602*c*, 603
sulfato de queratano I, 599, 601*f*, 602, 602*c*
sulfato de queratano II, 599, 601*f*, 602, 602*c*
sulfato esteroides, 234, 235
sulfato, en glucoproteínas, 547
sulfito oxidasa
deficiencia de, 100
metales de transición en, 100, 100*f*
sulfo(galacto)-glicerolípidos, 234
sulfogalactosilceramida, 202
acumulación, 235
síntesis de, 234
sulfotransferasas, 600
sulfuro de hidrógeno, inhibición de la cadena respiratoria por, 112, 123
sumoilación, de histonas, 351, 353*c*
superespirales negativas, DNA, 341
superespirales, DNA, 341, 367, 368*f*
superfamilia de receptores nucleares, 511-513, 512*f*, 513*c*
superóxido dismutasas (SOD), 204, 649-650
cobre en, 100
metales de transición en, 96-97
protección contra la toxicidad del oxígeno por, 116, 544
toxicidad de galio a, 94
superóxido, 649-650
supresor tRNA, 398
surfactante pulmonar de, 200, 229, 234
surfactante, pulmón, 229
deficiencia de, 200, 234
sustancia de anafilaxia de reacción lenta, 227
sustancias del grupo sanguíneo A, 653-654, 654*f*
Sustancias del grupo sanguíneo B, 653-654, 654*f*
sustancias del grupo sanguíneo H, 653-654, 654*f*
sustitución de bases, mutaciones que ocurren por, 396-397, 396*f*, 397*f*, 398*f*
sustratos análogos, 77, 77*f*
sustratos anapleróticos, 153-154
sustratos del receptor de insulina (IRS), 508, 509*f*
sustratos, 57
anapleróticos, 153-154
cambios conformacionales inducidos por, 60, 60*f*

concentraciones celulares de, 83
en ecuaciones químicas balanceadas, 69
grupo prostético, cofactor e interacciones de coenzima con, 58, 58*f*
múltiples, 79, 79f, 80*f*
para sustratos de la cadena respiratoria, 150-151, 151*f*
pares de, 125, 125*f*
regulación de las vías metabólicas con, 135
respuesta de velocidad de reacción a las concentraciones de, 71, 73-74, 73*f*, 74*f*

T
$t_{1/2}$. *Véase* vida media
T_3. *Véase* triyodotironina
T_4 (tiroxina). *Véase* tetrayodotironina
tabaco, 703
tabla periódica, 94*f*
TAFIa (inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina), 678*f*, 679
TAF (factores asociados con TBP), 380, 381*f*, 383-385
talasemias, 54
tamoxifeno, 703
tampón, 12
tampones
ácidos débiles que actúan como, 12-13, 12*f*
descritos en la ecuación de Henderson-Hasselbalch, 12, 12f
tándem MS (MS-MS, MS^2)
análisis de proteínas usando, 30
detección de enfermedades metabólicas con, 278, 280
tapones hemostáticos, formación de, 670, 671*f*
TaqI, 433*c*
tasa de reacción
cambio de energía libre de Gibbs y, 69
constante de Michaelis. *Véase* constante de Michaelis
efecto enzimático sobre, 72
efectos de la concentración de sustrato en la, 71, 73-74, 73*f*, 74*f*
efectos de la temperatura en la, 70, 71*f*, 72
efectos sobre la concentración de iones hidrógeno, 72-73, 73*f*
energía de activación y, 69-70, 70*f*, 72
velocidad inicial, 73-76, 73*f*, 75*f*, 76*f*, 79, 80*f*
velocidad máxima. *Véase* velocidad máxima
tasa metabólica basal (BMR), 524
tasa metabólica, 105, 524
taurina, conversión de cisteína a, 297, 297*f*
tautomería, 320, 320*f*
TBG (globulina fijadora de tiroxina), 498
TBP. *Véase* proteína de unión a TATA
TBP-asociado a factores (TAF), 380, 381*f*, 383-385
TEBG (globulina fijadora de estrógeno-testosterona), 499
técnicas de electrotransferencia, 438, 439*f*
técnicas de sondeo, 438, 439*f*
tecnología de DNA recombinante
aplicaciones de
análisis molecular de la enfermedad, 442-445, 443*f*, 444*f*, 444*c*
de mapeo de genes, 441
polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción, 445
polimorfismos de microsatélites, 445-446
polimorfismos de un solo nucleótido, 445
prácticas, 441
producción de proteína, 441-442
regulación génica dirigida, 446-447
clonación en, 435-438, 436*f*, 437*f*, 437*c*
enzimas de restricción
en la preparación de la molécula de DNA quimérico, 434-435
escisión de la cadena de DNA con, 433-434, 434
selección de, 433-434, 433*c*, 434*c*
estudios enzimáticos usando, 65-66, 66*f*
hematología y, 655
importancia biomédica de, 432
método de reacción en cadena de la polimerasa, 439-440, 441*f*
moléculas quiméricas en, 432
secuenciación de DNA, 439, 440*f*
síntesis de oligonucleótidos, 439
técnicas de transferencia y sondeo para, 438, 439*f*
tecnología de identificación de proteínas multidimensional (MudPIT), 31
tecnología de micromatrices de alta densidad, 447
tecnología genómica. *Véase* la tecnología de DNA recombinante
tejido adiposo marrón (BAT), 123-124, 247, 247*f*
tejido adiposo, 196, 229
absorción de glucosa por, 136-137, 137*f*
almacenamiento del triacilglicerol en, 244
durante alimentación, 130, 136-138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139c
hormonas y lipólisis en,
insulina 246, 246f, 245
lipasa, 244-245, 245*f*
ipogénesis y, 247
marrón, 247, 247*f*
perilipina en, 247
utilización de glucosa por, 245
tejido conectivo, 592. *Véase también* matriz extracelular
tejidos
absorción de la glucosa por, 136-137, 137*f*
diferenciación de, papel del ácido retinoico en, 529-530
durante alimentación, 130, 136 -138, 137*f*, 138*c*
en ayuno, 130, 138-139, 138*c*, 139*f*, 139*c*
hipóxicos, 160
vías metabólicas a nivel de, 132-133, 132*f*, 133*f*
telomerasa, 355, 692, 716
telómeros, 355, 355*f*, 716, 717*f*
temperatura
en estructura de membrana modelo del mosaico fluido, 465
respuesta de velocidad de reacción, 70, 71*f*, 72
transición, 340, 465
temperatura de fusión. *Véase* temperatura de transición
temperatura de transición (T_m), 340, 465
tensión de oxígeno, en células cancerígenas, 696
teobromina, 321, 323*f*
teofilina, 246, 321, 323*f*
teoría cinética, 70
teoría de colisiones, 70
teoría de la mutación somática del envejecimiento, 714
teoría del uso y desgaste en el envejecimiento
especies reactivas de oxígeno, 709-710, 710*f*, 711*f*
glicación de proteínas, 712-713, 714*f*
mecanismos de reparación molecular y, 713-715
mitocondrias y, 710, 712
radiación ultravioleta, 712, 713*f*
radicales libres, 710, 712
reacciones hidrolíticas, 708-709, 709*f*
teoría quimiosmótica, 121, 122*f*, 124
teorías metabólicas del envejecimiento, 715-716, 716*c*
terapia de chaperona química, 235
terapia de privación de sustrato, 235
terapia de rehidratación oral, 474
terapia génica, 4, 446
importancia biomédica de, 432
membranas artificiales y, 465
para trastornos de almacenamiento de lípidos, 235
para trastornos metabólicos, 278
vectores virales de mamíferos para, 437-438
terminación
de la síntesis de proteínas, 403-404, 404*f*
en el ciclo de transcripción, 376-379, 376*f*, 383
en la síntesis de proteoglicanos, 600
terminación de cadena, 376*f*, 378-379. *Véase también* terminación
terminación prematura, 397, 398*f*
termodinámica, de sistemas biológicos, 105-106
termogénesis inducida por la dieta, 524
termogénesis, 247, 247*f*
inducida por dieta, 524
termogenina, 123-124, 247, 247*f*
testosterona, 488*f*
metabolismo de, 487, 489*f*
síntesis de, 483, 484*f*, 485*f*, 487, 488*f*
transporte de plasma de, 498*c*, 499
tetrahidrofolato, 537, 537*f*
tetrámero de histona, 351, 351*f*, 353
tetrámeros, histona, 351, 351*f*, 353
tetrapirroles, en hemo, 48, 48*f*, 305, 306*f*
tetrayodotironina (tiroxina; T4) transporte de plasma de, 498, 498*c*
almacenamiento de, 497, 497*c*
síntesis de, 483, 484*f*, 492, 493*f*
tetrosas, 141, 142*c*
de importancia fisiológica, 143
TF (factor isular), 673, 673*c*, 674*c*
TFIIA, 381, 381*f*, 382*f*, 383-384
TFIIB, 381, 381*f*, 382*f*, 383-384
TFIID, 381, 381*f*, 382*f*
componentes de, 384-385
en la formación de RNA polimerasa II, 383-384
TFIIE, 381, 381*f*, 382*f*, 383-384
TFIIF, 381, 381*f*, 382*f*, 383-384
TFIIH, 381, 381*f*, 382*f*
en la formación RNA polimerasa II, 383-384
modificación CTD por, 384
TFPI (inhibidor de la vía del factor tisular), 673
TGN (red del trans Golgi), 574, 575*f*, 588
tiamina. *Véase* vitamina B_1
ticagrelor, 672
tiempo de cierre, 679
tiempo de hemorragia, 679
tiempo de sangrado de la piel, 679

tiempo parcial de tromboplastina activada (aPTT, PTT), 679
tiglil-CoA, catabolismo de, 292*f*, 293*f*
TIM (translocasa de la membrana interna), 576
timidilato, 338-339
timidina monofosfato (TMP), 322*f*, 322*c*
timidina, 322*c*
  vías de rescate de, 333
timina, 322*c*, 337*f*
  unión de bases en DNA, 339, 340*f*
  vías de rescate de, 333
tinte azul de Coomassie, 26, 26*f*
tioesterasa (deacilasa), 218, 218*f*, 219*f*
tioforasa (succinil-CoA acetoacetato transferasa), 211, 213*f*
  en el ciclo del ácido cítrico, 152*f*, 153
tiolasa, 209, 209*f*, 211
  en la síntesis de mevalonato, 250, 250*f*
tioquinasa. *Véase* acil-CoA sintetasa; succinato de tioquinasa
tioredoxina reductasa, 332, 332*f*
tioredoxina, 332, 332*f*
tipos de sangre, 654
tiras reactivas, 565
tiras reactivas de química seca, 565
tirofiban, 672
tiroglobulina, 492, 713*f*
tirosina aminotransferasa, 286, 287*f*
tirosina hidroxilasa, 491, 491*f*
tirosina quinasas, inhibidores de, 701
tirosina, 15*c*-16*c*
  absorción de luz ultravioleta por, 20, 20*f*
  catabolismo de esqueleto de carbono de, 286, 287*f*
  productos especializados de, 300, 302*f*
  síntesis de la hormona de, 483, 484*f*, 491-492, 491*f*, 493*f*
  síntesis de, 266, 267*f*
tirosinasa, cobre en, 98-100
tirosinemia tipo I, 286, 287*f*
tirosinemia tipo II, 286, 287*f*
tirosinil-tRNA, 407, 407*f*
tirosinosis, 286, 287*f*
tiroxina (T_4). *Véase* tetrayodotironina
T_m. *Véase* temperatura de transición
TME (microambiente tumoral), 682, 694-695, 695*f*
TMP (timidina monofosfato), 322*f*, 322*c*
TNAP (fosfatasa alcalina no específica de tejido), 605
tocoferoles. *Véase* vitamina E
tocotrienoles *Véase* vitamina E
tolbutamida, 215, 243
tolerancia a la glucosa, 180-181, 180*f*
TOM (translocasa de la membrana externa), 576
topoisomerasas, DNA, 341, 363*c*, 367, 367*f*
toxicidad
  bilirrubina, 313-314
  de ácido fólico, 538
  de aminoácidos vegetales, 18, 18*c*
  de metales de transición, 94-95, 95*c*
  de xenobióticos, 559, 559*f*
  del amoniaco, 273-274
  metales pesados, 93-94
  micronutrientes, 527
  niacina, 535
  oxígeno. *Véase* especies reactivas de oxígeno
  plomo, 93-94, 306, 309
  vitamina A, 530
  vitamina B_6, 535
  vitamina D, 532
toxicidad por hierro, 475
toxicosis del cobre, 634
toxina botulínica B, 587
toxina diftérica, 407, 472
toxina pertussis, 504
toxinas
  botulínica B, 587
  cólera, 202, 202*f*, 234, 504
  difteria, 407, 472
  microbiana, 472
  pertussis, 504
toxinas microbianas, 472
tPA (activador del plasminógeno tisular), 64, 678*f*, 679
traducción, 394. *Véase también* síntesis de proteínas
tráfico intracelular. *Véase también* clasificación de proteínas
  de proteínas, 573
  trastornos de, 580*c*, 589-590
  vesículas de transporte en, 585-588, 586*c*, 587*f*
trama Dixon, 78, 78*f*
trama recíproca doble, 74-75, 75*f*
  evaluación de inhibidor con, 77, 77*f*, 78*f*
  para las reacciones de Bi-Bi, 79, 80*f*
trampa de folato, 536*f*, 538
trampa de iones, 30
trampas extracelulares de neutrófilos, 661, 661*f*
transaldolasa, en la vía de la pentosa fosfato, 183-185, 183*f*, 184*f*
transaminación
  en el metabolismo de aminoácidos, 131, 132*f*, 272-273, 273*f*, 281
  mecanismo de ping-pong para, 59, 59*f*, 273, 273*f*
  papel del ciclo de ácido cítrico en, 153-154, 154*f*
transaminasa
  en el catabolismo de los aminoácidos, 281-282
  evaluación de la vitamina B_6, 535
transcetolasa
  en la vía de la pentosa fosfato, 183-185, 183*f*, 184*f*
  evaluación de la vitamina B_1, 534
transcitosis, 588
transcortina, 498-499, 498*c*
transcripción, 341
  activadores y correguladores en control, 384-385, 385*c*
  complejo de transcripción eucariota, 383-386
  en la síntesis de RNA, 339
  iniciación de, 375-377, 376*f*, 377*f*
  interacciones proteína-DNA en la regulación de, 414-418, 414*f*, 415*f*, 416*f*, 417*f*
  inversa en retrovirus, 344, 360, 367-368
  modulación hormonal de, 511-514, 512*f*, 513*f*, 513*c*, 514*c*
  promotores bacterianos en, 379, 380*f*
  promotores en, 376
    alternativa, 388-389, 389*f*
  promotores eucarióticos en, 379-381, 380*f*, 381*f*, 382*f*, 383
  terminación de, 383
transcripciones primarias, 356, 376, 390-391, 390*f*
transcriptasa inversa/transcripción inversa, 344, 360, 434*c*
transcriptómica, 3
transdeaminación, 273, 274*f*
transducción de señal
  a través de membranas, 459, 467*c*, 475-476
  CBP/p300 y, 513-514, 513*f*
  de hormonas, 500-501, 501*f*
transductores de señal y activadores de transcripción (STAT), 509, 510*f*
transductores, 370, 371*f*
transfección de DNA, endocitosis en, 474
transferasa terminal, 434*c*
transferasas, 57
transferencia Northern (RNA-DNA), 341
transferencia Southern (DNA/DNA), 341
transferrina deficiente en carbohidratos, 633
transferrina, 523, 523*f*, 627, 632-633, 632*c*, 634-635
transfusión de sangre, importancia del sistema ABO en, 653
transhidrogenasa, mitocondrial, 125
transición epitelial a mesénquima (EMT), 698, 699*f*
translocación
  de proteínas, 576
  de RNAm, 578
  en cáncer, 685, 686*f*
  en el núcleo celular, 577-578, 578*f*
translocación postraduccional, 576, 581-582, 582*f*
translocación, en la síntesis proteica, 403
translocaciones cromosómicas, en el cáncer, 685, 686*f*
translocasa de la membrana externa (TOM), 576
translocasa de la membrana interna (TIM), 576
translocón, 580
transportador de casete A1 dependiente de ATP (ABCA1), 241*f*, 242
transportador de aniones orgánico multiespecífico (MOAT), 312
transportador de fosfato, de las mitocondrias, 124, 124*f*
transportador de metal divalente, 632, 632*f*
transportador de nucleotido de adenina, de la mitocondria, 124, 124*f*
transportador de ornitina-citrulina, defecto en, 282
transportador SGLT1, 520, 520*f*
transportador tricarboxilato, 221, 221*f*
transportadores activos impulsados por ATP, 472, 473*c*
transportadores de glucosa (GLUT), 178, 178*c*
  en la regulación de glucosa en sangre, 245, 245*f*
  en los eritrocitos, 648, 648*c*
  insulina y, 470, 473, 473*f*
transportadores de intercambio, de mitocondrias, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
transportadores G1 dependiente de ATP (ABCG1), 241*f*, 242
transportadores y sistemas de transporte
  ATP en, 472-473, 472*c*
  transportadores involucrados en, 468-469, 468*f*, 468*c*, 469*f*
  ácido graso de membrana, 238
  activo unido a ATP, 472, 473*c*
  aquaporinas, 472
  canales iónicos y, 468*c*

casete de unión a ATP, 241*f*, 242
colesterol inverso, 241*f*, 242, 250, 254*f*, 257
de membranas, 459, 463, 469-470
de mitocondrias, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
difusión facilitada, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*
mecanismo de ping-pong de, 469, 469*f*
regulación hormonal, 469-470
transportadores implicados en 468-469, 468*f*, 468*c*, 469*f*
difusión pasiva, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*
difusión simple, 467-468, 467*f*, 467*c*, 468*f*
glucosa. *Véase* transportadores de glucosa
ionóforos, 471-472
proteínas de transporte de plasma, 498-499, 498*c*
tricarboxilato, 221
transporte activo, 467, 467*f*, 467*c*
ATP en, 472-473, 472*c*
de bilirrubina, 312
transportadores involucrados en, 468-469, 468*f*, 468*c*, 469*f*
transporte anterógrado (COPII), 586
transporte de electrones, en la cadena respiratoria, 118, 119*f*, 120-121, 120*f*, 122*f*
transporte de iones, en mitocondrias, 126
transporte facilitado, de bilirrubina, 312
transporte inverso de colesterol, 241*f*, 242, 250, 254, 254*f*, 257
transporte primario, 469
transporte retrógrado (COPI), 582-584, 586
transporte secundario, 469
transporte vesicular anterógrado 586*f*, 583
transporte vesicular retrógrado, 583
transposición, 360, 442
retroposonas y, 357
trans-preniltransferasa, 251*f*
transtirretina, 639
traslación de la muesca, 434*c*
trastornos conformacionales, 590
trastornos congénitos de glucosilación, 633
trastornos en el almacenamiento de lípidos (lipidosis), 234-235, 235*c*
trastornos genéticos
anemia hemolítica, 157, 163, 182, 188-189
cadena respiratoria, 126
acción de la bomba de protones, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*, 122*f*
aspectos clínicos de, 126
citocromo *c* en, 118, 119*f*, 120, 120*f*, 121*f*
coenzima Q en, 118, 119*f*, 120, 120*f*, 121*f*
complejos de, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*
control de la, 122-124, 123*c*
en compartimentos mitocondriales, 118, 118*f*
energía catabólica capturada, 121-122
flavoproteínas y proteínas de hierro-azufre en, 118-120, 119*f*
función deshidrogenasa en, 112
gradiente de protones, 121, 122*f*
importancia biomédica de, 118
inhibición de la, 112, 118, 123-124, 123*f*, 124*f*
oxidación de equivalentes reductores por, 118-121, 119*f*, 120*f*, 121*f*
producción de sustrato del ciclo del ácido cítrico para, 150-151, 151*f*
reducción de oxígeno en la, 120-121
transportadores de intercambio mitocondrial y, 124-126, 124*f*, 125*f*, 126*f*
transporte de electrones en, 118, 119*f*, 120-121, 120*f*, 122*f*
cáncer, 683, 688, 690-691, 691*c*
defectos del ciclo de la urea, 276-278, 277*c*
defectos del colágeno en, 43-44
defectos del metabolismo de aminoácidos, 276-278, 277*c*, 280-281, 293, 294*c*
deficiencia de piruvato deshidrogenasa, 163
deficiencias de glucoproteína hidrolasa lisosomal, 554-555
deficiencias del metabolismo de la fructosa, 190
deficiencias del sistema de coagulación, 678
enfermedades por almacenamiento de glucógeno, 164, 166, 167*c*, 170
enzimas para el diagnóstico de, 64-65
galactosemias, 191
mutaciones de hemoglobina, 53-54, 54*f*
porfirias, 305, 308, 310-311, 310*c*, 311*f*
trastornos hemorrágicos, 678
trastornos hemorrágicos hereditarios, 678
trastornos ligados a X, 445
trastornos metabólicos
características generales de, 276-277
defectos del ciclo de la urea, 276-278, 277*c*
del metabolismo de aminoácidos, 276-278, 277*c*, 280-281, 293, 294*c*
del metabolismo de la bilirrubina, 314-315, 314*f*, 315*c*
espectrometría de masas en tándem en la detección de, 278, 280
estudios iniciales en, 2
modificación de genes o proteínas para, 278
pesquisaje de neonato para, 565-566
trastornos nutricionales
defectos de colágeno en, 43
deficiencia de aminoácidos, 14, 131, 264, 264*c*, 526
estados de deficiencia múltiple en, 527
trauma, pérdida de proteína en, 526
trehalosa, 146*f*, 146*c*
treonina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 285, 285*f*
triacilglicerol
como combustible metabólico, 130, 136
vías metabólicas de, 131, 131*f*, 133, 133*f*
durante alimentación, 137-138, 137*f*, 138*c*
triacilgliceroles (triglicéridos), 199, 199*f*
digestión y absorción de, 520-521, 522*f*
en el núcleo de las lipoproteínas, 237-238, 238*f*
importancia biomédica de, 229
medicamentos para la reducción de los niveles séricos de, 257
metabolismo de
en el tejido adiposo, 244-245, 245*f*
hepático, 242-243, 243*f*
hidrólisis en, 229
hígado graso y, 243-244
lipoproteínas de alta densidad en, 241-242, 241*f*
perilipina y, 247
síntesis de, 230-232, 230*f*, 231*f*
transporte de, 238-239, 239*f*, 240*f*
trifosfato de adenosina (ATP)
captura y transferencia de energía por, 107-108, 107*c*, 108*f*, 121-122
ciclos de fosfato de, 109, 109*f*
como efector alostérico, 86
como fuente de energía celular, 108-110, 108*f*, 109*f*, 121-122
como transductor de libre energía, 322
control de suministro de, 122-123, 123*c*
degradación de proteína dependiente en, 270-271, 270*f*, 271*f*
en acoplamientos de reacciones exergónicas y endergónicas, 109
en la contracción muscular, 614-616, 615*f*, 620-621, 621*f*
en la regulación de glucólisis y la gluconeogénesis, 176, 176*f*
en la síntesis de purina, 328
en transporte activo, 472-473, 472*f*
energía libre de hidrólisis de, 107-108, 107*c*, 108*f*
estructura de, 107*f*, 108*f*, 321*f*
fosforilación oxidativa en la síntesis de, 118, 121-122, 122*f*
generación del ciclo de ácido cítrico, 151, 151*f*, 153
generación eritrocitaria de, 648, 648*c*
importancia biomédica de, 105
producción de glucólisis de, 157, 158*f*, 159, 159*f*, 161, 161*f*
producción de la oxidación de ácidos grasos de, 209-210, 209*f*, 210*c*
transporte de creatina fosfato para, 126, 126*f*
trifosfato de guanosina. *Véase* GTP
triglicéridos del. *Véase* triacilgliceroles
trimetilxantina, 321, 323*f*
trimetoprim, 537
trioquinasa, 186, 188*f*
triosa fosfato isomerasa, la estructura de, 37*f*
triosas, 141, 142*c*
de importancia fisiológica, 143
tripeptidasas, 521
triple hélice, de la estructura de colágeno, 43, 43*f*
tripsina, 521
catálisis covalente de, 61
para la fibrosis quística, 64
tripsinógeno, 521
triptófano 2,3-dioxigenasa (triptófano pirrolasa), 286-288, 289*f*
triptófano, 16*c*
absorción de luz ultravioleta por, 20, 20*f*
catabolismo de esqueleto de carbono de, 286-288, 289*f*, 290*f*
coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
deficiencia de, 534-535
productos especializados de, 300, 301*f*
trisfosfato de inositol, 200
triskelion, 475
triyodotironina (T_3)
almacenamiento de, 497, 497*c*
síntesis de, 483, 484*f*, 492, 493*f*
transporte de plasma de, 498, 498*c*
tRNA aminoácido de carga, 395, 395*f*
tRNA. *Véase* RNA de transferencia
trombina
conversión de fibrinógeno en fibrina por, 675-677, 675*f*, 676*f*
conversión de protrombina en, 674-675, 675*f*
en agregación plaquetaria, 670, 671*f*

en la formación de coágulos de fibrina, 672
inhibición de, 677-678
regulación de, 677
trombo blanco, 670
trombo rojo, 670
trombocitopenia aloinmune neonatal, 655
trombocitopenia, 646, 654-655
trombomodulina, 677
trombopoyetina, 647
trombos
formación de, 670, 671*f*
tipos de, 670
trombosis, 654
acciones de células endoteliales en, 670, 672
agregación plaquetaria en, 670, 671*f*
efectos anticoagulantes sobre, 677-678
fases de, 669
formación de coágulos de fibrina en. *Véase* la formación de coágulos de fibrina
importancia biomédica de, 669
inhibición de trombina en, 677-678
pruebas de laboratorio para, 679
regulación de trombina en, 677
suplementos de ácido fólico para, 538
tipos de trombos en, 670
tratamiento con alteplasa y estreptoquinasa de, 679
tromboxano A_2 (TxA_2), 198*f*, 224
en la agregación plaquetaria, 670, 671*f*
inhibición de, 672
tromboxanos (TXs), 197, 198, 198*f*, 216
formación en la vía de la ciclooxigenasa de, 224, 226*f*
significación clínica 226-227
tropocolágeno, 43, 43*f*, 594
tropoelastina, 596
tropomiosina, 614-615, 614*f*
troponinas cardiacas, 64
troponinas, 614-615, 614*f*
cardiacas, 64
TSS. *Véase* sitio de inicio de transcripción
Tumores
benignos, 681
malignos. *Véase* cáncer
TWSG1 (gastrulación retorcida 1), 635
TxA_2. *Véase* tromboxano A_2
TXs. *Véase* tromboxanos
TψC brazo. *Véase* brazo de ribotimidina pseudouridina citidina
U
UAS (secuencia activadora cadena arriba), 427
ubiquinona. *Véase* coenzima Q
ubiquitina
degradación de proteína dependiente de, 270-271, 270*f*, 271*f*
estructura de, 270, 270*f*
UCP1 (proteína de desacoplamiento 1), 247, 247*f*
UDPGal (uridina difosfato galactosa), 187-188, 189*f*
UDPGal 4-epimerasa, 187-188, 189*f*
UDPGlc deshidrogenasa, en la vía del ácido urónico, 186-187, 187*f*
UDPGlc pirofosforilasa
en la glucogénesis, 164, 165*f*
en la vía del ácido urónico, 186-187, 187*f*
UDPGlc. *Véase* uridina glucosa difosfato
úlceras pépticas, 555
úlceras, 519, 555
UMP (uridina monofosfato), 322*f*, 322*c*
unidad de transcripción de respuesta hormonal, 512*f*
unidad de transcripción, 376
unidades de isopreno, polipenoides sintetizados a partir de, 203
unidades de isoprenoide 204*f*, 250, 251*f*, 252*f*
unidades Svedberg, 347
unión cooperativa
de hemoglobinas, 51
ecuación de Hill para, 76, 76*f*
unión de mRNA, 386-388, 387*f*, 388*f*, 430
Unión Internacional de Bioquímica (IUB), sistema de nomenclatura enzimática de, 57
unión no homóloga (NHEJ), 369, 370*f*, 370*c*
uniones adherentes, 466
uniones estrechas, 466
uniportador de glucosa (GLUT2), 473-474, 473*f*
universalidad del código genético, 394*c*, 395
UPR (respuesta de proteína desplegada), 584
uracilo, 322*c*, 337*f*
emparejamiento de bases en RNA, 342, 343*f*
desoxirribonucleósidos de, en la síntesis de pirimidina, 332-333
en la síntesis de RNA, 375
uraciluria-timminuria, 327-328, 336
urato, como antioxidante, 204
urea
coeficiente de permeabilidad de, 463*f*
excreción de nitrógeno como, 272, 275, 275*f*
pruebas de laboratorio de, 566
rutas metabólicas de, 131, 133
síntesis de, 272-273, 272*f*, 273*f*, 275-276, 275*f*
defectos de, 276-278, 277*c*
enzimas activas, 722*c*
regulación de, 276
ureasa, metales de transición en, 97, 97*f*
uricasa, 334
uricemia, 336*c*
uridil transferasa, deficiencia de, 191
uridina galactosa difosfato (UDPGal), 187-188, 189*f*
uridina glucosa difosfato (UDPGlc)
en glucogénesis, 164-165, 165*f*
en vía del ácido urónico, 186-187, 187*f*
uridina monofosfato (UMP), 322*f*, 322*c*
uridina, 321*f*, 322*c*, 333
urobilinógeno, 313, 315, 315*c*
urobinasa, 678*f*, 679
urocilina, 313
urocilina aciduria, 282
uroporfirinógeno descarboxilasa, 307, 307*f*, 308*f*, 309*f*, 310*c*
uroporfirinógeno I sintasa, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
deficiencia en, 310, 310*c*
uroporfirinógeno I, en la síntesis de hemo, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
uroporfirinógeno III sintasa, 306, 307*f*, 308*f*, 309*f*
deficiencia en, 310, 310*c*
uroporfirinógeno III, en la síntesis de hemo, 306-307, 307*f*, 308*f*, 309*f*
UV. *Véase* luz ultravioleta

V
vacunas, anticancerígenas, 703
vaina de mielina, 200
validez, de pruebas de laboratorio, 561-563, 561*f*, 562*f*, 563*c*
valina, 15*c*
catabolismo de esqueleto de carbono, 288, 290, 292*f*, 293, 293*f*, 293*c*
síntesis de, 266-267
valinomicina, 125, 471-472
valor predictivo negativo, 562-563, 563*c*
valor predictivo positivo, de prueba de laboratorios, 562-563, 563*c*
valor predictivo, pruebas de laboratorio, 562-563, 563*c*
vanadio
absorción de, 101
estados multivalentes de, 93, 94f, 94*c*
funciones fisiológicas de, 100-101
requerimiento humano de, 93, 93*c*
variación diurna, en la síntesis de colesterol, 252
variación en el número de copias (CNV), 442
en cáncer, 692, 692*f*
vasodilatadores, 611, 622-623, 624*f*
vasos sanguíneos, afectados por óxido nítrico, 622-623, 624*f*
vCJD (forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob), 42
vector BAC (cromosoma bacteriano artificial), 436-437, 437*c*
vector de cromosoma artificial de levadura (YAC), 437, 437*c*
vector de expresión, 438
vector del bacteriófago de *E. coli* basado en P1 (PAC), 437, 437*c*
vector PAC (basado en bacteriófago P1 de *E. coli*), 437, 437*c*
vector YAC (cromosoma artificial de levadura), 437, 437*c*
vectores basados en bacteriófago P1 (PAC) de *Escherichia coli*, 437, 437*c*
vectores de clonación viral de mamífero, 437-438
vectores de clonación, 436, 436*f*, 437*c*
vectores de clonación, 436-437, 437*c*
VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), 697
velocidad inicial (v_i), 73-76, 73*f*, 75*f*, 76*f*, 79, 80*f*
velocidad máxima ($V_{máx}$), 73-76, 73*f*, 75*f*, 76*f*
efectos alostéricos en, 86
efectos inhibidores en, 77-78, 77*f*, 78*f*
en reacciones Bi-Bi, 79, 80*f*
velocidad, enzima. *Véase* velocidad inicial; velocidad máxima
vena porta hepática, 177
venenos, inhibidores de la cadena respiratoria, 112, 118, 123-124, 123*f*, 124*f*
vesículas
direccionamiento de, 587, 587*f*
en comunicación célula a célula, 476-478, 477*f*
en endocitosis, 474
extracelular, 476-478, 477*f*
procesamiento dentro, 588
proteínas de cubierta y, 583, 586-587, 586*c*, 587*f*
secretoras, 574, 575*f*
sináptica, 587
tipos y funciones de, 586*c*
transporte. *Véase* vesículas de transporte
vesículas COPI, 583, 586, 586*c*, 588
vesículas COPII, 583, 586, 586*c*, 587*f*

vesículas de transporte
definición de, 585
en la red trans de Golgi, 588
modelo de, 586-588, 586*c*, 587*f*
proteínas de revestimiento, 586
proteínas en, 574, 575*f*
vesículas extracelulares (EV), 476-478, 477*f*, 690
vesículas no recubiertas de clatrina. *Véase* vesículas de transporte
vesículas secretoras, 574
vesículas sinápticas, 587
v_i. *Véase* la velocidad inicial
vía alternativa, 644
vía clásica de activación del complemento, 643
vía cotraduccional, 580-581, 581*f*
vía de degradación lisosomal, 235
vía de la ciclooxigenasa, 224-225, 225*f*, 226*f*
vía de la ubiquitina proteosoma, degradación enzimática por, 84-85, 270-271, 270*f*, 271*f*
vía de lectina, 200*f*, 643, 644*f*
vía de lipoxigenasa, 198, 224, 225, 225*f*, 227*f*
vía de poliol, 190-191
vía de proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK), 508, 509*f*
vía de sorbitol, 190-191
vía de sulfinato de cisteína, 283, 284*f*
vía dehidroepiandrosterona, 487, 488*f*
vía del 3-mercaptopiruvato, 283, 284*f*
vía del ácido urónico
alteración de, 189
deficiencia de, 182
reacciones de, 186-187, 187*f*
vía del receptor de muerte, de apoptosis, 692-694, 693*f*
vía exocitótica (secretora), 574
vía extrínseca, 672-673, 672*f*, 673*f*, 673*c*, 674*c*
vía glicerol fosfato, 231*f*
vía intrínseca, 672-674, 672*f*, 673*f*, 673*c*, 674*c*
vía Jak/STAT, 508-509, 510*f*
vía lisogénica, 414*f*, 415
vía lítica, 414*f*, 415
vía MAPK (proteína quinasa activada por mitógeno), 508, 509*f*
vía mitocondrial, de apoptosis, 692-694, 693*f*
vía monoacilglicerol, 230, 231*f*, 521
vía pentosa fosfato, 130, 131*f*
conexiones de glucólisis con la, 183*f*, 185
deterioro de, 188-189
equivalentes reductores generados por, 185
fase oxidativa irreversible de, 183-185, 183*f*, 184*f*
fase reversible no oxidativa, 183, 183*f*, 184*f*, 185
importancia biomédica de la, 182
NADPH producido por, para lipogénesis, 218, 219*f*, 220*f*
protección contra hemólisis de la, 185-186, 186*f*
ubicación celular de la, 182-183
vía quinurenina-antranilato, 286-288, 289*f*, 290*f*
vía secretora (exocitótica), 574
vías anabólicas, 129
vías anfibólicas, 129
ciclo ácido cítrico como, 153, 154*f*
vías catabólicas, 129
vías de información, 502, 502*f*
vías NF-κB, 510-511, 510*f*
vida media ($t_{1/2}$)
de proteínas plasmáticas, 630
de proteínas, 270
vida útil
evolución y, 717
masa corporal *versus*, 715-716, 716*c*
versus longevidad, 707-708
vimentinas, 625, 625*c*
vinblastina, 625
virus
ciclofilinas en, 42
endocitosis mediada por receptor y, 475
glucanos en unión de, 555
integración cromosómica con, 359-360, 360*f*
RNA en, 344
síntesis de proteína de célula huésped por, 405-406, 406*f*
tumor, 684-685, 684*c*, 686*f*, 703
virus de la gripe A, glucanos en la unión de, 555
virus de la gripe aviar, glucanos en la unión de, 555
virus de la hepatitis B (HBV), 703
virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)
desnutrición causada por, 525
glucanos en la unión de, 555
virus del papiloma humano (HPV), 703
virus del sarcoma de Rous (RSV), 685
virus herpes simple, 380*f*
virus tumorales, 684-685, 684*c*, 686*f*, 703
visión, función de vitamina A en, 529, 530*f*
vitamina A (retinol)
deficiencia de, 528*c*, 530
estructura de, 529, 529*f*
funciones de, 528*c*, 529-530, 530*f*
toxicidad de, 530
vitamina B_1 (tiamina)
coenzimas derivadas de, 58
deficiencia de, 161, 163, 528*c*, 534
estructura de, 533, 533*f*
funciones de, 528*c*, 533-534
necesidad para ciclo de ácido cítrico, 153
necesidad para vía de la pentosa fosfato, 185
vitamina B_{12} (cobalamina)
absorción de, 101, 536
cobalto en, 98
deficiencia de, 528*c*, 536-538, 536*f*
estructura de, 536, 536*f*
funciones de, 528*c*, 536, 536*f*
vitamina B_2 (riboflavina)
coenzimas derivadas de, 58
deficiencia de, 42, 528*c*, 534
funciones de, 528*c*, 534
grupos flavinas formados a partir de, 112, 114
medición de, 189
necesidad para ciclo de ácido cítrico, 153
vitamina B_6 (piridoxina, piridoxal, piridoxamina)
deficiencia de, 288, 290*f*, 528*c*, 535
en aminotransferasas, 273, 273*f*, 535
estructura de, 535, 535*f*
funciones de, 528*c*, 535
toxicidad de, 535
vitamina C (ácido ascórbico)
absorción de hierro y, 523-524
como antioxidante, 204, 544, 544*f*
como prooxidante, 544, 544*c*
deficiencia de, 43, 263, 266, 528*c*, 540, 596
en la síntesis de ácidos biliares, 256*f*
en la síntesis de colágeno, 43
estructura de, 539, 539*f*
funciones de, 528*c*, 539
ingestas más altas, 540
requerimiento humano de, 182, 186
vitamina D (calciferol), 528
absorción de calcio y, 523
colesterol como precursor para, 249
como precursor de calcitriol, 489
deficiencia de, 528*c*, 531-532
en la homeostasis del calcio, 531
ergosterol como precursor para, 203, 203*f*
funciones de, 528*c*
hormona naturaleza de, 530-531, 531*f*
síntesis y metabolismo de, 530-531, 531*f*
toxicidad de, 532
vitamina D_3 (colecalciferol), 530, 531*f*
como antioxidante, 203
formación e hidroxilación de, 489-491, 490*f*
vitamina D-proteína de unión, 490
vitamina E (tocoferoles, tocotrienoles)
como antioxidante, 204, 532, 544, 544*f*
como prooxidante, 545
deficiencia de, 528*c*, 532
estructura de, 532, 532*f*
funciones de, 528*c*, 532
hígado graso y, 244
vitamina K
deficiencia de, 528*c*, 533
estructura de, 532-533, 533*f*
funciones de, 528*c*, 532-533, 533*f*
vitaminas
digestión y absorción de, 523-524
importancia biomédica de, 527
lípido soluble o clasificación de soluble en agua, 527, 528*c*
lípido-(graso-) soluble, 196
para mantenimiento de la salud, 3
pruebas de laboratorio para, 564-565
requerimientos nutricionales para, 527-528
vitaminas liposolubles, 527, 528*c*
vitaminas solubles en agua, 527, 528*c*
VLDL. *Véase* lipoproteínas de muy baja densidad
$V_{máx}$. *Véase* velocidad máxima
VNTR (números variables de repeticiones en tándem), 445, 549
vorinostat, 690

W
warfarina, 532-533
interacciones farmacológicas de, 557
mecanismo de, 677-678

X
xantina oxidasa, 112
deficiencia de, hipouricemia y, 335
molibdeno en, 100
xantina, 321, 323*f*
xanturenato, 288, 290*f*
xenobióticos
efectos tóxicos, inmunológicos y carcinogénicos de, 559, 559*f*
importancia biomédica de, 556
metabolismo de
acetilación y metilación, 558-559
conjugación, 558
hidroxilación por citocromo P450, 556-558
tipos de, 556